FUJIFILM

Life Science

ハンドブック

DNA組織キット

QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)

Ver.3.1

Contents

1. はじめに ····· 4

2. キット内容物と保存条件 ····· 4

2-1 キット内容物 ····· 4

2-2 保存条件 ····· 4

3. キット以外にご準備いただくもの ····· 5

4. 取扱上の安全注意事項 ····· 7

5. 使用上の注意事項 ····· 8

6. 品質管理 ····· 10

7. 製品説明 ····· 10

8. プロトコール ····· 11

【Overview Flow Chart】····· 11

8-1 試薬の準備 ····· 11

8-2 ライセート作製プロトコール ····· 13

8-3 QG-810/QG-800を用いた抽出プロトコール ····· 19

8-4 QG-Mini80を用いた抽出プロトコール ····· 22

9. トラブルシューティング ····· 27

10. オーダリング・インフォメーション ····· 32

付録1 QG-810パラメータについて ····· 33

付録2 QG-800パラメータについて ····· 34

付録3 QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) データ例 ····· 35

ご注意 本キットに含まれる試薬は、すべて研究用試薬です。診断および臨床用試薬として使用しないでください。

1. はじめに

FUJIFILMの製膜技術により開発された薄さ80μmの多孔質フィルターを採用しました。
このフィルターを用いることで、加圧法にて核酸を抽出するシステムを実現しました。

このキットの特徴は以下のとおりです。

- このキットをご使用いただくことにより、簡便に動物組織からゲノムDNAを抽出することができます。
- 有害な有機溶剤が不要です。
- 8サンプル同時に抽出操作を行うことができます。
  ライセートセット後の抽出時間は以下のとおりです。
  QuickGene-810/QuickGene-800（以下QG-810/QG-800）：約13分
  QuickGene-Mini80（以下QG-Mini80）：約9分
- タンパク質やカオトロピック塩を含まない、高純度のゲノムDNAが得られます。得られた高品質のゲノムDNAはPCR、制限酵素処理、サザンブロッティングなどのアプリケーションに適しています。

QuickGeneを用いて抽出を行う際は、各装置の取扱説明書をよくお読みください。

2. キット内容物と保存条件

2-1 キット内容物

以下の内容物が入っていますので確認してください。
キットには96処理分のゲノムDNA抽出用試薬が含まれています。

□ Proteinase K	EDT	2.5ml
□ Tissue Lysis Buffer	MDT	25ml
□ Lysis Buffer	LDT	30ml
□ Wash Buffer	WDT	160ml
□ Elution Buffer	CDT	100ml
□ Cartridges（カートリッジ）	CA	96個
□ Collection Tubes（コレクションチューブ）	CT	96個
□ Caps（キャップ）	CAP	96個
□ Waste Tubes（ウェイストチューブ）	WT	96個

2-2 保存条件

指定の温度（15 ～ 28℃）で保存してください。試薬は指定の温度で保存した場合、購入後1年間安定です。より安定に保つためEDTは開梱後、冷蔵（2 ～ 8℃）で保存することをお勧めします。

3. キット以外にご準備いただくもの

①試薬

- 特級エタノール（>99%）（ライセート調製時およびWDTの希釈に使用）

※必要に応じて用意していただく試薬

- RNase A

  [推奨品]

  ・Ribonuclease A（Sigma Cat. No. R5125 *1、*2
  R5500 *1、*2
  R6513 *1
  R4642）

  ・Ribonuclease A（MP Biomedicals Cat. No. 101076 *1、*2）

  ・RNase A（AMRESCO Cat. No. 0675 *1、*2）

  ・RNase A（QIAGEN Cat. No. 19101）

  ・RNase A（Invitrogen Cat. No. 12091）

  *1：10mM Tris HCl pH7.5、15mM NaClを用いて100mg/ml溶液を調製してください。

  *2：R5125、R5500、101076、0675は100℃ 15分処理をしてDNase活性を失活してから使用してください。

②器具・機材

- QuickGene
- 未使用の遠沈管*1（大/小のセット）
- マイクロピペット
- マイクロピペット用チップ
- 1.5ml、2mlマイクロチューブ
- チューブスタンド
- チューブミキサー（2,500rpm程度の攪拌ができるもの）
- マイクロ遠心機（8,000×g（10,000rpm）程度の遠心が可能なもの）
- シェーカー（55℃でシェーキングできるもの）
- ヒートブロックまたはウォーターバス（70℃で使用可能なもの）*2

＊1 遠沈管はQG-810/QG-800で、所定量の特級エタノールを添加したWDT、CDTを入れる容器として使用します。QG-Mini80をご使用の場合は不要です。
＊2 マウス尾から抽出される場合は不要です。

遠沈管の推奨品は、表1のとおりです。使用するカートリッジ数に応じて使い分けてください。

表1　遠沈管の種類（QG-810/QG-800ご使用の場合）

バッファスタンド（または遠沈管ホルダ）のサイズ	対応するカートリッジ数	遠沈管の種類	品　名
標準	～16	大きい遠沈管（WDT用）	50ml コニカルチューブ（BDファルコンなど）
		小さい遠沈管（CDT用）	15ml コニカルチューブ（BDファルコンなど）
大	～72	大きい遠沈管（WDT用）	175ml コニカルチューブ（BDファルコンなど）
		小さい遠沈管（CDT用）	50ml コニカルチューブ（BDファルコンなど）

4. 取扱上の安全注意事項

◆ EDT（Proteinase K）

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。
● 目、皮膚および衣服についたときは、水で充分に洗ってください。

◆ MDT（Tissue Lysis Buffer）

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。
● 目、皮膚および衣服についたときは、水で充分に洗ってください。
● この薬品を扱う場合は、適切な保護手袋および保護めがねを着用してください。

◆ LDT（Lysis Buffer）

薬品の特性　　：● 飲むと有害の可能性があります。
取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。
● 目、皮膚および衣服についたときは、水で充分に洗ってください。
● この薬品を扱う場合は、適切な保護手袋および保護めがねを着用してください。

◆ WDT（Wash Buffer）

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。
● 目、皮膚および衣服についたときは、水で充分に洗ってください。

◆ CDT（Elution Buffer）

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。
● 目、皮膚および衣服についたときは、水で充分に洗ってください。

◆ LDTは、温度の高い場所での使用、保存は避けてください。

◆ LDTを含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。

◆ 感染性のおそれのあるサンプルを使用する場合

感染性のおそれのあるサンプルを扱う場合は、適切な保護具を着用してください。

◆ 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合

感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、感染性産業廃棄物に該当しますので関連する法に従い、焼却、溶融、滅菌、消毒などの処理をしてください。なお、処分業者に委託する場合は、特別管理産業廃棄物処分業の許可を受けた業者へ、特別管理産業廃棄物管理票（マニフェスト）を添えて処理を委託してください。

◆ 参考情報

各試薬の性状および取扱いに関する詳細情報は、MSDS（製品安全データシート）を参照してください。MSDSは弊社ホームページ（http://lifescience.fujifilm.com/）からダウンロードできます。

5. 使用上の注意事項

◆サンプルに関する注意事項

- 本キットは、基本的に動物組織5mgからのゲノムDNAの抽出に対応しています。

表2：処理可能最大組織量

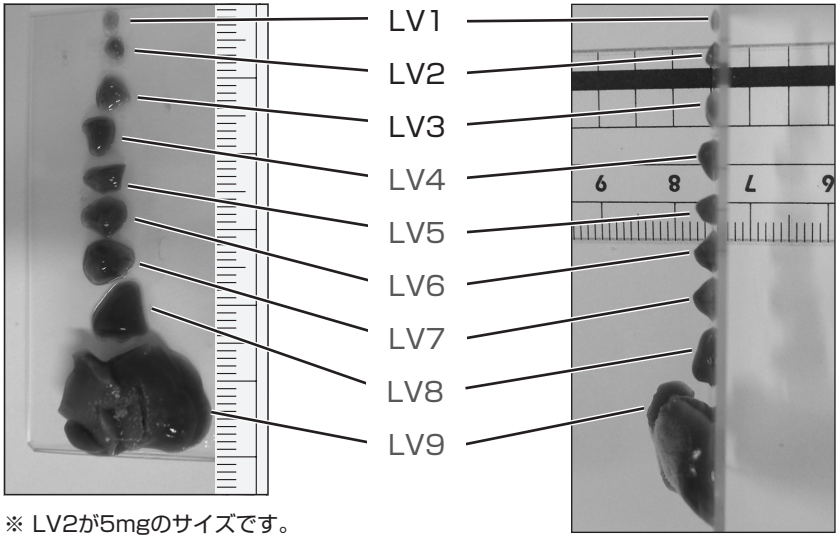
Balb/cマウス（メス、7週齢）正常組織での例です。

組織部位	処理可能最大組織量
肝臓	10 mg
肺	10 mg
腎臓	10 mg
尾	10 mg

- 処理可能最大組織量は組織の状態、部位などにより変動します。組織部位、状態、消化の状態によっては処理可能最大組織量が表2に示した量より少なくなることもあります。
- 本キットで初めて抽出されるサンプルの場合は、組織量5mgから抽出をスタートし、予備実験を行ってください。
- 処理可能量を超えた組織量をオーバーロードしてしまうと、性能が顕著に低下し、最悪の場合カートリッジ（CA）が目詰まりを起こす可能性があります。
- ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。
- サンプルを室温で放置したり、凍結、融解を繰り返した場合、ゲノムDNAが分解したり収量が低下することがあります。
- 図１にマウス正常組織（肝臓）の重量とサイズの対応例を実寸大で示します。組織重量の参考にしてください。

図1：マウス正常組織（肝臓）の重量とサイズの対応例
Balb/cマウス（メス、7週齢）正常組織での例です。

No.	実測値	長　軸	短　軸	高　さ	
LV1	2.3mg	1.5mm	1.5mm	0.5mm	処理可能範囲
LV2	5.0mg	2.0mm	2.0mm	1.0mm	
LV3	11.6mg	4.0mm	4.0mm	1.0mm	
LV4	16.2mg	5.0mm	4.0mm	2.0mm	適用外
LV5	21.7mg	5.0mm	3.5mm	2.5mm	
LV6	25.6mg	6.0mm	5.0mm	2.5mm	
LV7	30.7mg	7.0mm	5.0mm	2.5mm	
LV8	56.7mg	8.0mm	7.0mm	2.5mm	
LV9	850.2mg	20.0mm	14.0mm	8.0mm	



※ LV2が5mgのサイズです。

◆試薬に関する注意事項

- MDTは保存中に析出物を生じることがあります。析出物が生じた場合、55℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。
- LDTは保存中に析出物を生じることがあります。析出物が生じた場合、37℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。
- LDTは、温度の高い場所での使用、保存は避けてください。
- LDTを含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。

◆操作に関する注意事項

- すべての操作は室温（15 ～ 30℃）で行ってください。低温または高温でご使用の場合、キットの性能が発揮されないことがあります。
- 抽出の途中では時間をおかず、操作は素早く行ってください。
- 下記ページを参照し、QuickGeneの準備をした上でライセート作製を開始することをお勧めします。
  QG-810/QG-800をご使用の場合：8-3（p.19）、付録1（p.33）、付録2（p.34）
  QG-Mini80をご使用の場合：8-4（p.22）
- 詳しくは、QuickGeneの取扱説明書を参照してください。

6. 品質管理

- キットロット間の性能差がないことを確認しています。
- QuickGene DNA tissue kit S（DT-S）には、ゲノムDNA、DNaseおよび菌のコンタミネーションがないことを確認しています。
- ゲノムDNAの収量や品質は260nmの吸光度、260nm/280nmの吸光度比によって確認しています。また、PCR増幅能があることを保証しています。

7. 製品説明

本キットは、動物組織からのゲノムDNAの抽出に対応します。基本処理可能量は5mgです。
マウス正常組織より本キットを用いて抽出した際のゲノムDNA収量、純度例（A260/280）は表3のとおりです。

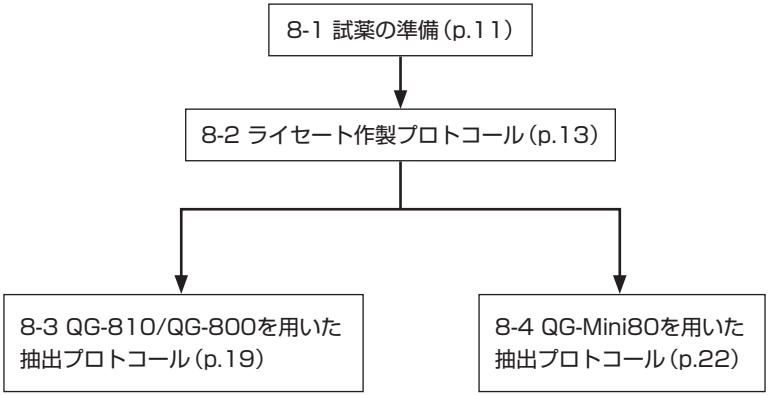
表3　ゲノムDNAの収量例（RNase処理あり）
　　Balb/cマウス（メス、7週齢）正常組織での例です。

組織	5mgあたり収量例	A260/280
肝臓	4.5μg	1.88
尾	4.0μg	1.92

- 収量はサンプルの状態により変動します。
- 凍結サンプルで、凍結、融解を繰り返した場合、ゲノムDNA収量や分子量が低下することがあります。
- ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。
- 肝臓などRNAを多く含む組織の処理量が多い場合、標準のRNase処理をしてもRNAを充分分解できないことがありますので、RNaseの使用条件を検討してください。
- CDT量の初期値は200μlです。最低回収量は50μlまで設定可能ですが、溶出効率が低下する可能性があります。

8. プロトコール

【Overview Flow Chart】



8-1 試薬の準備

◆EDT（2.5ml）
EDTはより安定に保つため、冷蔵（2 ～ 8℃）で保存することをお勧めします。

◆MDT（25ml）
使用前に充分に混和してください。
析出物が生じた場合は、55℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。

◆LDT（30ml）
使用前に充分に混和してください。
析出物が生じた場合は、37℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。

◆WDT（160ml）
濃縮状態でお届けします。
使用前に、ボトルに160mlの特級エタノール（>99%）を添加し、よく混和してください。
エタノール添加後はボトル蓋ラベルの「ethanol added?」チェックボックスにチェックを入れてください。また、エタノール添加後は揮発を防ぐために、ボトルの蓋をしっかりと閉めてください。

◆CDT（100ml）
ゲノムDNA溶出時には、必ずCDTを使用してください。

◆RNase A（RNase処理をする場合）
RNase Aはキットには含まれていません。p.5の推奨RNase Aを準備してください。

◆WDT（特級エタノール添加済み）およびCDTの必要量（QG-810/QG-800をご使用の場合）

表4を参考に、抽出処理をするカートリッジ数に応じて、WDT、CDTの必要量を準備してください。

準備した液は、指定の遠沈管（表1 p.6参照）に移し、QG-810/QG-800のバッファスタンド（または遠沈管ホルダ）の所定の位置にセットしてください。

表4　WDT、CDT必要量

カートリッジ数	WDT (QG-810/QG-800)	CDT (QG-810)	CDT (QG-800)
8	26 ml	9 ml	8 ml
16	44 ml	11 ml	11 ml
24	62 ml	13 ml	13 ml
32	80 ml	15 ml	15 ml
40	99 ml	17 ml	17 ml
48	117 ml	19 ml	19 ml
56	135 ml	21 ml	21 ml
64	154 ml	22 ml	22 ml
72	172 ml	24 ml	24 ml

※ ディスチャージなどに必要な液量は、
QG-810：WDT 8.0ml、CDT 7.4ml
QG-800：WDT 8.0ml、CDT 6.4mlです。

カートリッジ数に応じてWDT、CDTを加算してください。

1カートリッジあたりWDT 2.25ml、CDT 200μl使用します。

例えばカートリッジ2本使用する場合は、12.5mlのWDTとQG-810では7.8mlのCDT、QG-800では6.8mlのCDTが必要です。

※ WDT、CDT用遠沈管のサイズは表1（p.6）を参照してください。

8-2　ライセート作製プロトコール

本キットは、基本的に動物組織5mgからのゲノムDNAの抽出に対応しています。

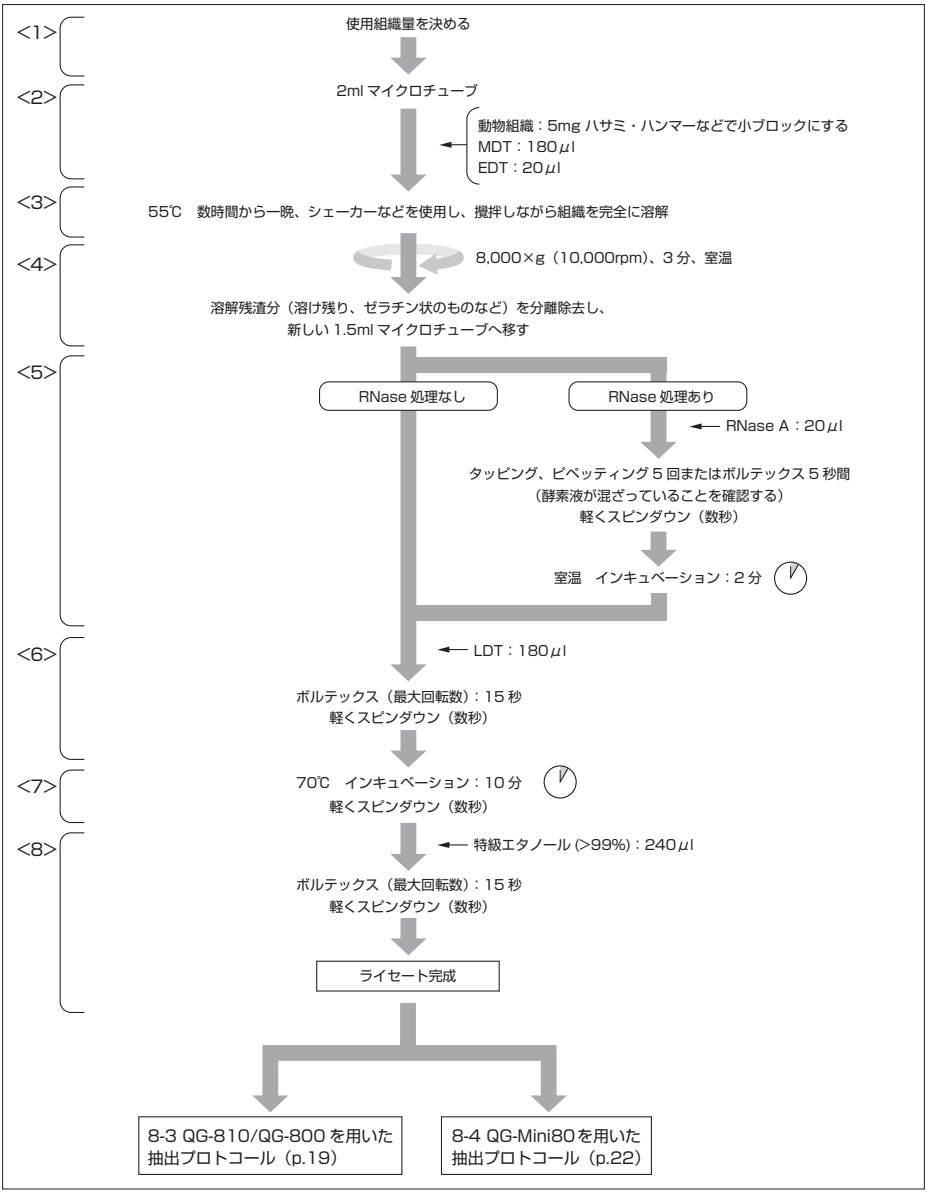
【抽出を始める前の重要事項】
- 試薬類は室温に戻してから使用してください。
- 組織溶解に使用するシェーカーを55℃に設定してください。(p.15、18<3>で使用)
- 動物組織(マウス尾以外)からの抽出を行う場合は、ヒートブロックまたはウォーターバスの温度を70℃に設定してください。
- サンプルおよび試薬の液量はライセート作製フロー(p.14、17)に記載された液量を厳守してください。
- 動物から切り取った組織は、所定量を直ちにMDTへ浸してください。
- すぐに使用しない場合は、液体窒素で素早く凍結し、冷凍保存(−20℃または−80℃)してください。
- サンプルを室温で放置したり、凍結、融解を繰り返すと、ゲノムDNAが分解したり、収量が低下することがあります。
- クロスコンタミネーションを防ぐために毎回ピペットチップを交換することをお勧めします。
- LDTを含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。
- 抽出の途中では時間をおかず、操作は素早く行ってください。
- 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、感染性産業廃棄物に該当しますので、適切な処理を行ってください。

【抽出を始める前の確認事項】
- WDTは濃縮状態でお届けします。抽出を始める前に必ず160mlの特級エタノール(>99%)が添加されていることを確認してください。

動物組織の場合とマウス尾の場合でプロトコールが異なります。所定のプロトコールをお使いください。

動物組織：p.14
マウス尾：p.17

動物組織：ライセート作製フロー



動物組織：ライセート作製プロトコール詳細

＜1＞ 動物から切除した新鮮または凍結組織を準備してください。
組織サンプルは所定量（基本的には5mg）を使用してください。

組織量が多すぎた場合、目詰まり、顕著な収量減少、精度低下の可能性があります。目詰まりした場合は、組織量を減らして検討してください。
室温で組織を放置しないでください。ゲノムDNAが分解してしまいます。

＜2＞ 組織をハサミ、ハンマーなどで1.5 ～ 2mm角の小ブロックにし、動物組織重量を測定し、2mlマイクロチューブに入れてください。MDTを180μl、続いてEDTを 20μl添加します。

凍結組織を使用する場合、組織を室温にしてから直ちにMDTを添加してください。
新鮮な組織を使用する場合は、所定量の組織へ直ちにMDTを添加してください。

＜3＞ 55℃にて攪拌しながら、組織を完全に溶解させます。攪拌しなかった場合、所定量の組織でも完全に溶解しない場合があります。できれば加温できるシェーカーなどで攪拌してください。加温できるシェーカーをお持ちでない場合は、ヒートブロックなどを使用し、時々ボルテックスして組織をよく溶解してください。

溶解時間は組織の種類により変わります。例えば、脳・肺・腎臓の場合は16時間程度、肝臓の場合は3時間程度を目安としてください。溶解しにくい場合は、時間を延長してください。

＜4＞ 不溶分を除くため、8,000×g（およそ10,000rpm）、3分、室温にて遠心します。
残渣分（溶け残り、ゼラチン状のもの）を吸い取らないように、新しい1.5mlマイクロチューブに上清を移してください。

＜5＞ RNase処理

ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。RNase処理をしない場合は、＜6＞へ進んでください。
RNase Aを20μl添加してください（Cat. No. 12091（Invitrogen）の場合は60μl）。タッピングやピペッティング5回、または、ボルテックスを5秒程度行うことでRNase Aをサンプル液とよく混ぜてください。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。室温にて2分間インキュベーションします。

RNase Aは3-①（p.5）を参照して推奨品を使用し、DNaseフリーでないRNase Aを使用する場合は、DNase不活化処理（100℃にて15分インキュベーション）をしてください。
組織の種類によりRNAの含有量が違います。含有量が低い組織の場合、使用するRNase A量を減量することができます。

<6> サンプル液にLDTを180μl添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。

LDTの混和がボルテックスで不充分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。LDT液添加時に混合液が白くなったり沈殿物が生じることがありますが、70℃に加温すると溶解します。

<7> 70℃にて10分間インキュベーションします。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。

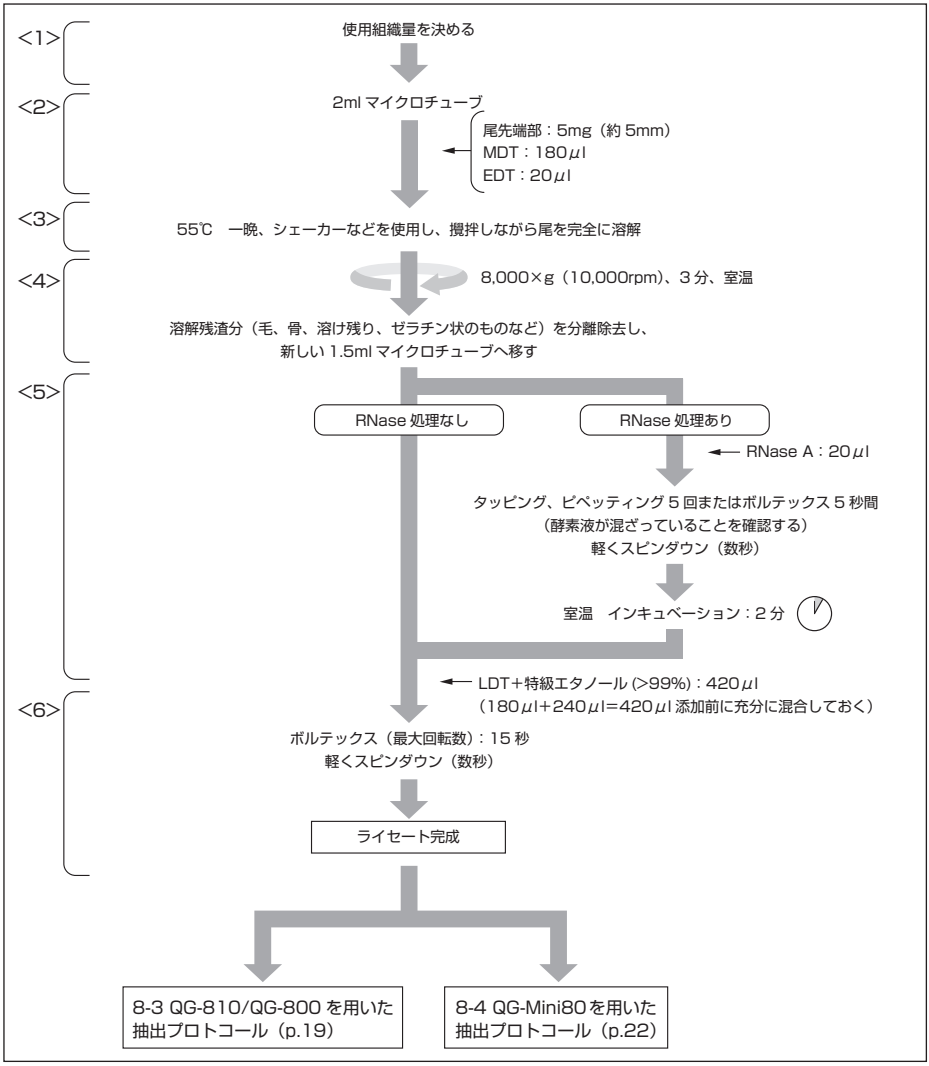
<8> 特級エタノール(>99%)を240μl添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します(ライセート完成)。

混和がボルテックスで不充分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。

ライセート完成後は、速やかにQuickGeneにて抽出操作を行ってください。

8-3 QG-810/QG-800を用いた抽出プロトコール(p.19)
8-4 QG-Mini80を用いた抽出プロトコール(p.22)

マウス尾：ライセート作製フロー



マウス尾：ライセート作製プロトコール詳細

＜1＞ マウスから切除した新鮮または凍結した尾を準備してください。
尾は所定量（基本的には5mg）を使用してください。

量が多すぎた場合、カートリッジ（CA）の目詰まり、顕著な収量減少、精度低下の可能性があります。
目詰まりした場合は、組織量を減らして検討してください。
マウスの尾5mgはおよそ5mmですが、マウスの種類、週齢などで異なります。
切断した尾を室温で放置しないでください。ゲノムDNAが分解してしまいます。

<2> 尾先端部の重量を測定し、2mlマイクロチューブに入れてください。MDTを180μl、続いてEDTを 20μl添加します。

凍結組織を使用する場合、組織を室温にしてからMDTを添加してください。
新鮮な組織を使用する場合は、所定量の組織へ直ちにMDTを添加してください。

<3> 55℃にて攪拌しながら、尾を完全に溶解させます。攪拌しなかった場合、所定量の尾でも完全に溶解しない場合があります。できれば加温できるシェーカーなどで攪拌してください。加温できるシェーカーをお持ちでない場合は、ヒートブロックなどを使用し、時々ボルテックスして尾をよく溶解してください。

溶解時間はマウスの週齢により変わります。7週齢メスのマウスの場合、16時間程度で溶解します。
溶解しにくい場合は、時間を延長してください。

<4> 不溶分・毛・骨などを除くため、8,000×g（およそ10,000rpm）、3分、室温にて遠心します。残渣分（毛、骨、溶け残り、ゼラチン状のもの）を吸い取らないように、新しい1.5mlマイクロチューブに上清を移してください。

<5> RNase処理

ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。RNase処理をしない場合は、<6>へ進んでください。
RNase Aを20μl添加してください（Cat. No. 12091（Invitrogen）の場合は60μl）。タッピングやピペッティング5回、または、ボルテックスを5秒程度行うことでRNase Aをサンプル液とよく混ぜてください。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。室温にて2分間インキュベーションします。

RNase Aは3-①（p.5）を参照して推奨品を使用し、DNaseフリーでないRNase Aを使用する場合は、DNase不活化処理（100℃にて15分インキュベーション）をしてください。
尾の状態によりRNAの含有量が違います。含有量が低い場合、使用するRNase A量を減量することができます。

<6> あらかじめ、1サンプルにつきLDT 180μlと特級エタノール（>99%）240μlを充分に混和しておきます。
サンプル液にLDT・特級エタノール混合液（420μl）を添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンダウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します（ライセート完成）。

混和がボルテックスで不充分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。

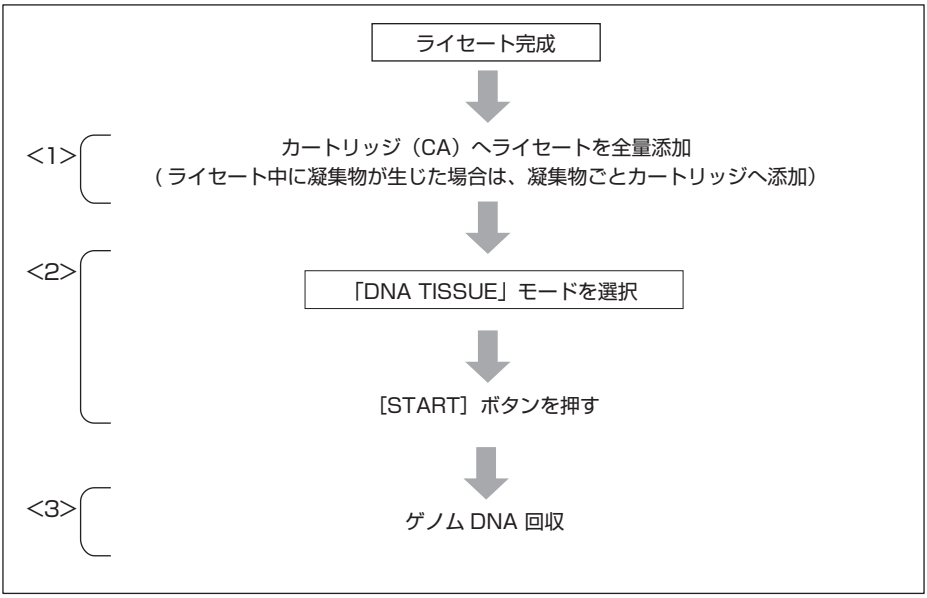
ライセート完成後は、速やかにQuickGeneにて抽出操作を行ってください。
8-3 QG-810/QG-800を用いた抽出プロトコール（p.19）
8-4 QG-Mini80を用いた抽出プロトコール（p.22）

8-3　QG-810/QG-800を用いた抽出プロトコール

- ご使用になる前にQG-810/QG-800の取扱説明書をよくお読みになり、必要な準備をしてください。
- WDTに160mlの特級エタノール（>99%）が添加されていることを確認してください。
- QG-810/QG-800の抽出モードは、「DNA TISSUE」モードを選択してください。
- 各試薬、カートリッジ（CA）および各チューブはクリーンルームで生産されております。ご使用の際はヌクレアーゼの混入を避けるため、手袋を着用してセットしてください。
- カートリッジ（CA）および各チューブのセットの方法、および各試薬のセット位置については、QG-810/QG-800の取扱説明書をお読みください。
- QG-810/QG-800のフロントカバーを開けて、専用のコレクションチューブ（CT）、ウェイストチューブ（WT）をチューブホルダ（またはコレクションチューブホルダ）に差し込みます。カートリッジは専用カートリッジ（CA）を使用してください。
- p.11を参考に、WDT（特級エタノール添加済み）、CDTをQG-810/QG-800にセットしてください。
- カートリッジ（CA）の位置がずれていると、液がこぼれたり、抽出操作ができないおそれがあります。
- フロントカバーを閉め、オペレーションパネルの [DISCHARGE] ボタンを押してください。ディスチャージ操作を行わないと、管内の残留エアの影響で規定量のWDT、CDTが注入されず、正確な結果が得られません。

- カートリッジ（CA）内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
- LDTを含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。
- 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、感染性産業廃棄物に該当しますので、適切な処理を行ってください。

QG-810/QG-800抽出フロー



QG-810/QG-800抽出プロトコール詳細

＜1＞〈ライセート添加〉8-2（p.13 ～ 18）で調製したライセート全量をカートリッジ（CA）へ添加します。

ライセート中に凝集物が生じた場合は、ピペッティングにより凝集物を浮かせ、全量を凝集物ごとカートリッジへ添加します。
ライセート完成後は、速やかに抽出操作を行ってください。やむを得ず放置する場合は、ライセート完成後30分以内に抽出してください。

＜2＞〈抽出〉抽出モードは、本キット用にパラメータ設定したモードを選択してください。
パラメータの確認方法は、付録1（p.33）、付録2（p.34）を参照してください。
QG-810/QG-800のフロントカバーを閉め、オペレーションパネルに適切なモードが表示されていることを確認してから、[START] ボタンを押します。

抽出操作が始まるとオペレーションパネルに「PROCESSING」（QG-810）または「EXECUTING」（QG-800）と表示されます。QG-810をご使用の場合、抽出状況が各ランプ（BINDING、WASHING、ELUTION）の点滅によって確認できます。

ご注意 抽出動作中（「PROCESSING」または「EXECUTING」と表示されているとき）はフロントカバーを開けないでください。万一開けると、抽出動作が停止し、継続抽出できない場合があります。表5で確認してください。

表5　抽出中にフロントカバーを開けた場合の動作

	QG-810	QG-800
抽出動作	停止	停止
抽出継続	可能*1	不可*2

*1 QG-810：QG-810 取扱説明書のp.29「3.6 抽出処理中にフロントカバーを開いた場合の対処方法」を参照してください。

*2 QG-800：使用した前処理サンプルは、再度使用することはできませんので廃棄処分してください。サンプルの廃棄に関しては、本書p.7「4. 取扱上の安全注意事項 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合」を参照してください。

<3> 〈抽出終了〉ピピーッと音が鳴れば抽出終了です。
オペレーションパネルには抽出結果が表示されます。

表6　抽出結果

	QG-810	QG-800	備　考
正常終了	✓ （チェック）	○	
抽出不良	－ （ハイフン）	×	カートリッジの詰まり
カートリッジ未装着	＿ （アンダーバー）	▲	カートリッジなしまたは抽出前にエラーが発生

装置が完全に停止していることを確認した後、フロントカバーを開け、チューブホルダ（またはコレクションチューブホルダ）より、コレクションチューブ（CT）を取り出します。
カートリッジ（CA）からのゲノムDNA溶出量は、200μlです。

CDT量は50μlまで下げられますが、その場合、収量が3割ほど低下する可能性があります。
すぐにゲノムDNAを使用しない場合はキャップ（CAP）をしっかりと閉めた後、4℃で保存してください。長期間ゲノムDNAを保存される場合、−20℃で保存することをお勧めします。

<4> ウェイストチューブ（WT）を取り出します。ウェイストチューブと廃液を規定に従って捨ててください。カートリッジホルダを取り外し、カートリッジ（CA）も処分します。
ディスチャージトレイの廃液も捨ててください。

8-4　QG-Mini80を用いた抽出プロトコール

- ご使用になる前にQG-Mini80の取扱説明書をよくお読みになり、必要な準備をしてください。
- WDTに160mlの特級エタノール（>99%）が添加されていることを確認してください。
- チューブホルダにウェイストチューブ（WT）をセットしてください。
- チューブホルダにチューブアダプタを取り付け、コレクションチューブ（CT）をセットしてください。コレクションチューブの代わりに1.5mlマイクロチューブを使用することもできます。この場合、チューブアダプタは不要です。
- カートリッジホルダをチューブホルダの洗浄位置（W）に差し込み、カートリッジ（CA）をセットします。その際、カートリッジホルダ右のリリースレバーが左端に戻っていることを確認してからカートリッジをセットしてください。

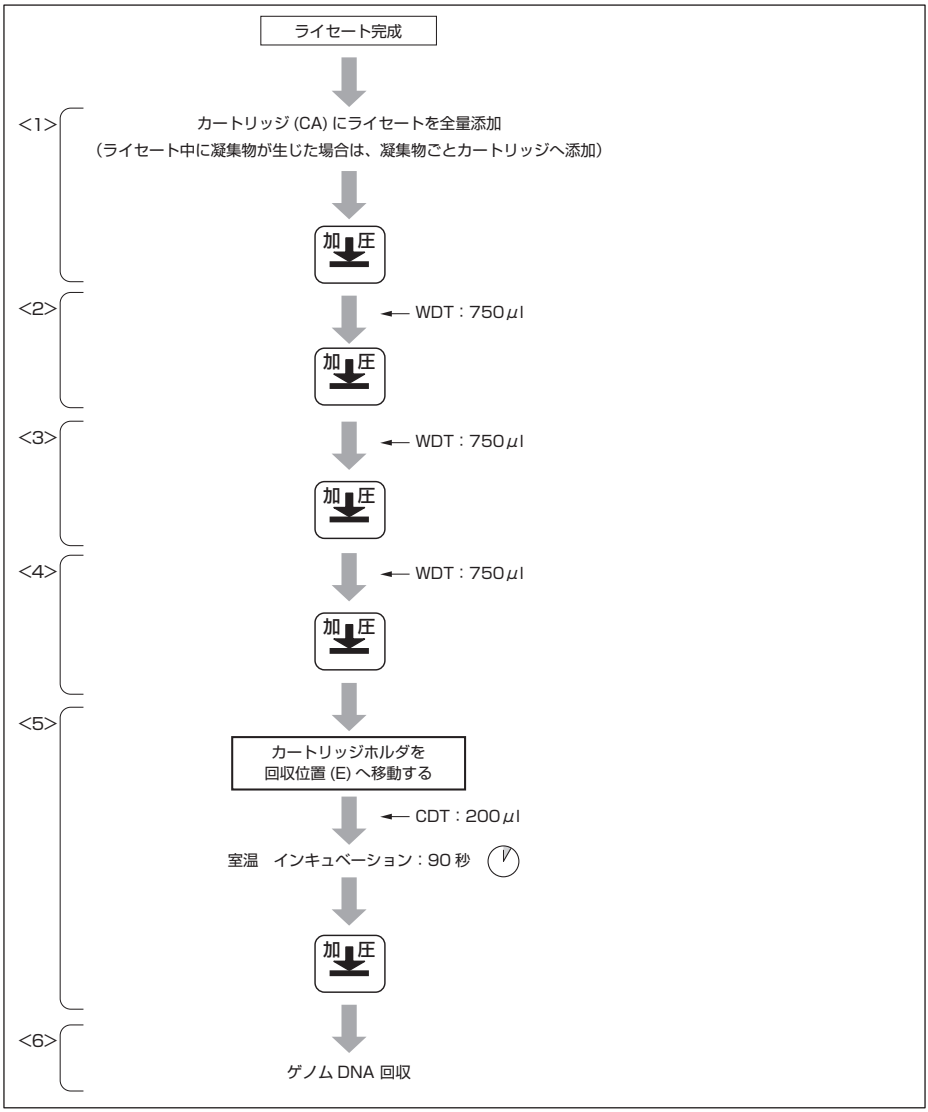
- チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットする際は、奥に突き当たるまで押し込んでください。
- ライセートおよびWDT（特級エタノール添加済み）を加圧する際は、QG-Mini80本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。
- CDTを加圧する際は、QG-Mini80本体トレイ上のWASHラベルがチューブホルダの下に隠れて見えないことを確認してください。

- 加圧操作を繰り返しても液が残っているカートリッジ（CA）がある場合は、そのカートリッジだけをを上へ引き抜き、トラブルシューティング（(2)、p.28）に従い別途処理を行ってください。

- カートリッジ（CA）内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
- LDTを含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。
- 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、感染性産業廃棄物に該当しますので、適切な処理を行ってください。

QG-Mini80抽出フロー

抽出フロー中の加圧マーク 加圧 は下記操作を意味しています。
① チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80にセットする
② 加圧スイッチを手前に回して加圧開始
③ カートリッジ（CA）内に液が残っていないことを確認してから加圧スイッチを元の位置に戻す
④ チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80から取り出す



QG-Mini80抽出プロトコール詳細

<1> 〈ライセート添加〉8-2（p.13 ～ 18）で調製したライセート全量をカートリッジ（CA）へ添加します。チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。ライセートがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

ライセート中に凝集物が生じた場合は、ピペッティングにより凝集物を浮かせ、全量を凝集物ごとカートリッジに添加します。
ライセート完成後は、速やかに抽出操作を行ってください。やむを得ず放置する場合は、ライセート完成後30分以内に抽出してください。
加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もライセートがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

<2> 〈洗浄1回目〉チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）を引き出し、WDT 750 μlをカートリッジ（CA）へ添加します。チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDTがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

<3> 〈洗浄2回目〉チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）を引き出し、WDT 750 μlをカートリッジ（CA）へ添加します。チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

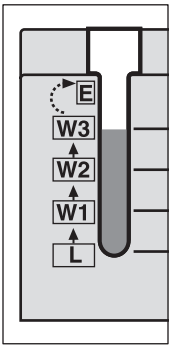
加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDTがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

<4> 〈洗浄3回目〉チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）を引き出し、WDT 750μlをカートリッジ（CA）へ添加します。チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDTがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

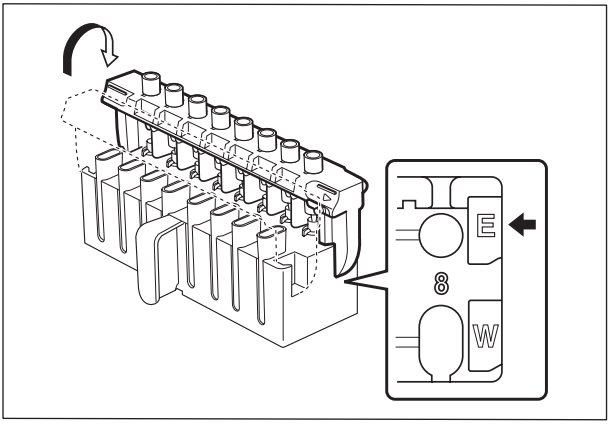
3回目のWDT加圧終了後、チューブホルダの廃液目盛りの廃液高さは「W3」の位置になります（下記イラスト参照）。

4回以上WDTを添加しないでください。カートリッジに廃液が付着してコンタミネーションを起こしたり、ウェイストチューブ（WT）から廃液があふれたりすることがあります。



<5> 〈回収〉チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）を引き出し、リリースレバーに触れないように注意しながら、カートリッジホルダを回収位置（E）に移動します（下記イラスト参照）。CDT 200μlをカートリッジ（CA）へ添加し、チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルがチューブホルダの下に隠れて見えなくなっていることを確認してください。
室温にて90秒間インキュベート後、QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。CDTがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もCDTがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。
溶出液量は50μlまで下げられますが、その場合、収量が3割ほど低下する可能性があります。



<6> チューブホルダ（カートリッジホルダセット済み）を引き出します。チューブホルダからカートリッジホルダをはずし、カートリッジ（CA）を捨てます。カートリッジホルダ右のリリースレバーを右端にスライドさせるとカートリッジが落下します。コレクションチューブ（CT）を取り出し、専用チューブラック（別売）にコレクションチューブを並べ、キャップ（CAP）をしっかりと閉めます。専用チューブラックをお持ちでない場合は、キャップを閉めてから、コレクションチューブを取り出してください。コレクションチューブの代わりに1.5mlマイクロチューブを使用した場合は、1.5mlマイクロチューブの蓋をしっかりと閉めてから取り出してください。ウェイストチューブ（WT）と廃液を規定に従って捨ててください。

すぐにゲノムDNAを使用しない場合は、キャップまたは1.5mlマイクロチューブの蓋をしっかりと閉めた後、4℃で保存してください。長期間ゲノムDNAを保存される場合、−20℃で保存することをお勧めします。

9. トラブルシューティング

トラブルが生じた場合には、以下の対策をご参照ください。

(*)：QG-810/QG-800をご使用の場合
(**)：QG-Mini80をご使用の場合

(1)DNAの収量が低い、DNAが得られない

原　因	対　策
組織の保存方法が不適切	組織の種類、大きさ、量、保管期間、保存条件でゲノムDNA収量は変わります。不適切な保存条件では収量が低下します。適切な条件でサンプルを保存してください。動物から組織を取り出したら、所定量を直ちにMDTへ浸すか、直ちに液体窒素で凍らせ、凍結(−20℃または−80℃)保存してください。
組織溶解が不完全	EDTを含むMDTに、組織を完全に浸して溶解してください。 溶解するときに、組織を細かく切ってください。 加温できるシェーカーを用いてシェーキングを行い、よく攪拌してください。シェーカーを使用しない場合は、55℃にて加温しながら時々ボルテックスで混和してください。必要に応じて溶解インキュベーション時間を延長してください。 組織量が5mg以上の場合で、本キットで初めて抽出する組織の場合は、組織5mgあたりのEDT：MDT比が20μl：180μlになるように比例計算で調整してください。LDT(動物組織の場合は180μl、マウス尾の場合はLDTと特級エタノール(>99%)混合液 420μl)と組織溶解後の遠心上清を混合するときは、遠心上清のうち200μlを採取してください。
マウス尾5mgをMDTとEDTで一晩溶解した後、溶解物がゲル状になった	組織溶解中の攪拌が不充分です。液が混ざり合うように攪拌しながらインキュベートしてください。振とう培養器、ハイブリオーブンなどを利用しサンプルチューブ栓をして横倒しした状態で攪拌、混和するとよく混ざります。攪拌が不完全であった場合、透明なゲル状の物が現れますが、ボルテックスでよく混ぜてゲル状の物を溶解してから、次のステップへ進んでください。
試薬、サンプルの添加順序が不適切	ライセート調製時、マイクロチューブには、溶解した組織サンプル→LDT→特級エタノール(>99%)の順で添加してください。尾の場合は、エタノールを加えたLDTをサンプルへ添加してください。
試薬の容量比が不適切	組織溶解後の遠心上清をロスした場合は、遠心上清量、LDT液量およびエタノール液量を「遠心上清：LDT：特級エタノール(>99%)=200：180：240」に、マウス尾の場合は「遠心上清：LDTと特級エタノール混合液=200：420」に調節してください。
フィルターが破れてしまった	カートリッジ(CA)内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
必要以上の加圧を行った(**)	ライセートやWDTがカートリッジ(CA)から抜けたら、できるだけすぐに加圧をやめてください。必要以上に加圧してしまった場合、溶出時のインキュベーション時間を4分に延長すると収量が戻る可能性があります。
カートリッジ(CA)内の液が抜けた後放置した(**)	QG-Mini80での抽出を始めたら、途中で放置せずに最後まで続けてください。万一放置した場合、溶出時のインキュベーション時間を4分に延長すると収量が戻る可能性があります。
組織量が多すぎた	所定量まで組織量を減らしてください(表2 p.8参照)。マウス尾先端部の場合、約5mmが5mgに相当します。
LDT添加後のボルテックスが不充分	LDT添加直後に、最大回転数で充分にボルテックス(15秒)または転倒混和してください。

原　因	対　策
WDTに所定量の特級エタノールを添加していない	WDT使用前には、必ず所定量の特級エタノール（>99%）を添加したことを確認してください。（8-1 p.11参照）
カートリッジ（CA）へライセート全量を添加しきれていない	ライセートに凝集物が見られた場合は、凝集物も含めて全量をカートリッジに添加してください。
セット試薬の不足（*）	QG-810/QG-800にセットした試薬が充分であることを確認してください。
CDT量が不適切（*）	QG-810/QG-800：パラメータが変更されているか確認してください。特に、CDT量のパラメータ（「ELUT VOL」（QG-810）または「CLCT VOL」（QG-800））が間違っていないこと（「200」であること）を確認してください。また、ラインに気泡が残っていたらディスチャージ操作を行ってください。パラメータの設定についてはQG-810/QG-800の取扱説明書も併せて参照してください。 QG-Mini80：CDT量が200μlであることを確認してください。
試薬に析出物が生じた	（6）「試薬に析出物が生じた」参照
ゲノムDNAの溶出にCDT以外の試薬を使った	ゲノムDNA溶出時にはCDTを使用してください。
古いWDTを使用した（*）	QG-810/QG-800に1日以上セットされたWDTは使用しないでください。
DNAの分解	（3）「DNAが分解した」参照
カートリッジ（CA）内の液が抜けた後、放置した（**）	QG-Mini80での抽出を始めたら、途中で放置をせずに最後まで続けてください。

（2）カートリッジ（CA）が詰まった

原　因	対　策
組織量が多すぎた	所定量まで組織量を減らしてください（表2 p.8参照）。マウス尾先端部の場合約5mmが5mgに相当します。
LDT添加後のボルテックスが不充分	LDT添加直後に、最大回転数で充分にボルテックス（15秒）または転倒混和してください。
加圧時間が足りない（**）	もう一度、1分間加圧してください。
組織溶解が不完全	EDTを含むMDTに、組織を完全に浸して溶解してください。 溶解するときに、組織を細かく切ってください。 加温できるシェーカーを用いてシェーキングを行い、よく攪拌してください。シェーカーを使用しない場合は、55℃にて加温しながら時々ボルテックスで混和してください。必要に応じて溶解インキュベーション時間を延長してください。
組織の不溶解物が詰まった	MDTとEDTで溶け残った残渣を、遠心（8,000×g（10,000rpm）、3分）して取り除いてからLDTを添加してください。
QG-810/ QG-800：完了後の表示が「－（QG-810）または ×（QG-800）」となっている もしくはカートリッジにライセートまたはWDTが残っている（*） QG-Mini80：加圧操作を繰り返してもライセートやWDTが抜けきらない（**）	「補足（p.31）」を参考に、カートリッジ（CA）からフィルターを取り外して、DNAのリカバリーを試してください。

原　因	対　策
カートリッジ(CA)内の液が抜けた後、放置した(**)	QG-Mini80での抽出を始めたら、途中で放置をせずに最後まで続けてください。
ゲノムDNAの溶出にCDT以外の試薬を使った	ゲノムDNA溶出時にはCDTを使用してください。

(3)DNAが分解した

原　因	対　策
組織の保存方法が不適切	動物から組織を取り出したら、所定量を直ちにMDTへ浸すか、直ちに液体窒素で凍らせ、凍結保存(−20℃または−80℃)してください。

(4)DNAの純度が低い

原　因	対　策
所定の洗浄条件で行っていない(**)	洗浄はWDT 750μlで3回行ってください。
試薬、サンプルの添加順序が不適切	ライセート調製時、マイクロチューブには、溶解した組織サンプル→LDT→特級エタノール(>99%)の順で添加してください。尾の場合は、エタノールを加えたLDTをサンプルへ添加してください。
試薬の容量比が不適切	組織溶解後の遠心上清をロスした場合は、遠心上清量、LDT液量およびエタノール液量を「遠心上清：LDT：特級エタノール(>99%)=200：180：240」に、マウス尾の場合は「遠心上清：LDTと特級エタノール混合液=200：420」に調節してください。
LDT添加後のボルテックスが不充分	LDT添加直後に、最大回転数で充分にボルテックス(15秒)または転倒混和してください。
WDTに所定量のエタノールを添加していない	WDT使用前には、必ず所定量の特級エタノール(>99%)を添加したことをご確認ください。(8-1 p.11参照)

(5)PCRなど、続けて行う実験がうまくいかない

原　因	対　策
使用したDNA量が不適切	260nm吸光度から濃度を確認してください。
DNAの純度が低い	(4)「DNAの純度が低い」参照
DNAの分解	(3)「DNAが分解した」参照

(6)試薬に析出物が生じた

原　因	対　策
低温で保存している	指定の温度(15～28℃)で保存してください。 析出物が生じた場合は、MDTは55℃、その他の試薬は37℃にて加温し析出物を溶解後、室温に戻してから使用してください。

(7) LDT→エタノール添加後、あるいはLDTとエタノール混合液添加後に白色沈殿物が発生

原　因	対　策
室温が低い	この沈殿物は、55℃のインキュベーションで溶解されます。溶解後、室温に戻してから抽出操作をしてください。
組織量が多すぎた	組織量が所定量（表2 p.10参照）より少なかったことをご確認の上、凝集物ごとカートリッジ（CA）に添加してください。

(8) コレクションチューブ（CT）または1.5mlマイクロチューブにサンプルが回収されない（空である）

原　因	対　策
CDTのセット量が不足またはディスチャージ操作を行っていない（*）	表4（p.12）に従い、必要量のCDTをセットしてください。また、QG-810/QG-800の取扱説明書を参照し、ディスチャージ操作を必ず行ってください。
CDTを添加していない（**）	カートリッジホルダを回収位置（E）に移動させた後、CDTを200μl添加してください。
CDT添加の際、カートリッジホルダを回収位置（E）に移動させていない（**）	CDT添加時は、必ずカートリッジホルダをチューブホルダの回収位置（E）に移動させてから添加を行ってください。

(9) カートリッジ（CA）がカートリッジホルダに保持されない

原　因	対　策
カートリッジホルダ右のリリースレバーが左端に戻っていない（**）	リリースレバーが左端に戻っていることを確認してからカートリッジ（CA）をセットしてください。

補足：目詰まりしたカートリッジ(CA)からのDNAリカバリー方法

QG-810/QG-800の場合：

<1> ライセートがカートリッジ(CA)に残っている場合

カートリッジに残ったライセートを新しいカートリッジに移し、8-3 <1>(p.20)以降の操作を再度行ってください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは、下記1）以降を参照して行ってください。

<2> WDTがカートリッジ(CA)に残っている場合

カートリッジに残ったWDTを捨ててください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは、下記1）以降を参照して行ってください。

QG-Mini80の場合：

<1> ライセート加圧工程で目詰まりした場合

カートリッジ（CA）に残ったライセートを新しいカートリッジに移し、8-4<1>（p.23）以降の操作を再度行ってください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは下記1）以降を参照して行ってください。

<2> WDT加圧工程で目詰まりした場合

カートリッジ（CA）に残ったWDTを捨ててください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは下記1）以降を参照して行ってください。

【目詰まりしたカートリッジ（CA）からのDNAリカバリー方法】

準備：70%エタノール、耳鼻科用ピンセットまたは先曲り先細ピンセット

1）あらかじめ、1.5mlマイクロチューブに200μl CDTを分取しておきます。

2）カートリッジ(CA)に70%エタノールを750μl添加します。数回ゆっくりとピペッティングした後、ピペットで吸うかデカンテーションして70%エタノールを除去します。カートリッジを逆さにして残りのエタノールをキムワイプなどに吸わせます。

3）図2、3を参考に、ピンセットの先でフィルターの外周を押さえつけながら、フィルターをカートリッジ（CA）より外してください。

4）取り外したフィルターを1）で準備した1.5mlマイクロチューブ中のCDTに浸漬し、70℃にて10分間インキュベーションします。

5）最大回転数にてボルテックスを1分間行ってください。数秒間スピンダウンして、蓋や壁についた液を収集します。

6）フィルターを取り出し、新しい1.5mlマイクロチューブに入れます（リカバリー完了後、廃棄します）。または、フィルターを残して浸漬した液を新しい1.5mlマイクロチューブに移してください。

7）8-2<6>（p.18）のLDT(180μl)と特級エタノール(>99%)(240μl)混合液(420μl)添加から再開し、マウス尾からゲノムDNAを抽出する方法にてゲノムDNAを回収してください。

図2　ピンセットをカートリッジ（CA）に入れた様子

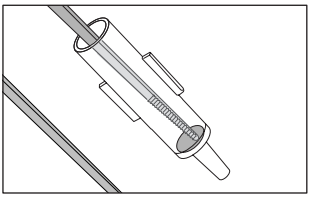
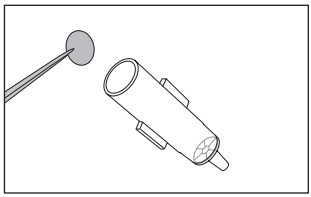


図3　フィルターを取り外したところ



10. オーダリング・インフォメーション

製　品	Cat #
QuickGene DNA tissue kit S	DT-S
QuickGene DNA組織キット	
QuickGene DNA whole blood kit S	DB-S
QuickGene DNA全血キット	
QuickGene RNA tissue kit S Ⅱ	RT-S2
QuickGene RNA組織キットⅡ	
QuickGene RNA cultured cell kit S	RC-S
QuickGene RNA培養細胞キット	
QuickGene RNA cultured cell HC kit S	RC-S2
QuickGene RNA培養細胞HCキット	
QuickGene RNA blood cell kit S	RB-S
QuickGene RNA血液細胞キット	
QuickGene Plasmid kit S	PL-S
QuickGene プラスミドキット	

付録1　QG-810パラメータについて

QG-810をご使用の方は、「DNA TISSUE」モードを選択してください。
パラメータは下表のとおりです。

表示順	LCD表示	パラメータ
1	BIND PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	110
4	WASH VOL1	750
5	WASH VOL2	750
6	WASH VOL3	750
7	WASH VOL4	750
8	WASH VOL5	750
9	WASH DIP TM	0
10	WAS2 WAIT T	0
11	WAS2 COUNT	0
12	WAS2 PEAK	110
13	WAS2 VOL1	750
14	WAS2 VOL2	750
15	WAS2 VOL3	750
16	WAS2 VOL4	750
17	WAS2 VOL5	750
18	ELUT VOL	200
19	ELUT PEAK	100
20	ELUT DIP TM	90

※CDT量を50μlにする場合は「ELUT VOL」パラメータを「50」に変更してください。
　パラメータを変更する場合、変更方法はQG-810取扱説明書をご参照ください。

付録2　QG-800パラメータについて

QG-800をご使用の方は、「DNA TISSUE」モードを選択してください。
パラメータは下表のとおりです。

表示順	動作項目	パラメータ
1	SAMP PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	110
4	WASH VOL1	750
5	WASH VOL2	750
6	WASH VOL3	750
7	WASH VOL4	750
8	WASH VOL5	750
9	WAS2 COUNT	0
10	WAS2 PEAK	110
11	WAS2 VOL1	750
12	WAS2 VOL2	750
13	WAS2 VOL3	750
14	WAS2 VOL4	750
15	WAS2 VOL5	750
16	CLCT VOL	200
17	CLCT PEAK	120

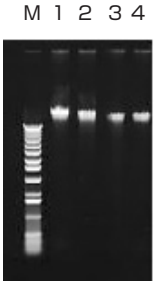
※CDT量を50μlにする場合は「CLCT VOL」パラメータを「50」に変更してください。
　パラメータを変更する場合、変更方法はQG-800取扱説明書をご参照ください。

付録3　QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)データ例

- **電気泳動**

図4は本キットを用いて、5mgのマウス肺、腎臓、尾、肝臓から抽出したゲノムDNAの電気泳動の結果です。

図4



番号	サンプル
1	肺
2	腎臓
3	尾
4	肝臓

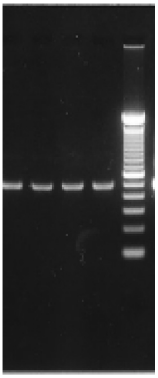
M：マーカー (1Kb Plus DNA Ladder：Invitrogen社製)
泳動条件：0.5% Agarose/1×TAE

当社システムと専用キットを使用することで、動物組織から高純度なゲノムDNA を抽出することができました。

- PCR

図5はマウス肺、腎臓、尾、肝臓から抽出したゲノムDNA 30pg を用いて、G3PDHをターゲットにPCRを行った結果です。

図5



番号	サンプル
1	肺
2	腎臓
3	尾
4	肝臓

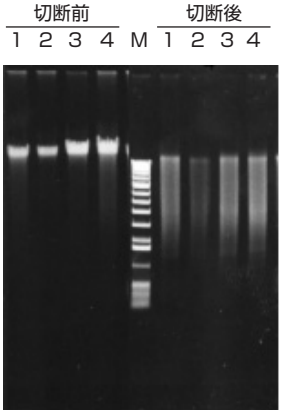
M：マーカー (100bp DNA Ladder：Invitrogen社製)
テンプレート：回収ゲノムDNA 30pg
プライマー　：G3PDH（ターゲットサイズ：452bp）
泳動条件：2% Agarose/1×TAE

ゲノムDNA 30pg を用いて、G3PDHのPCR増幅が確認できました。

● 制限酵素切断(EcoRI)

QG-800および本キットを用いて、5mgの動物組織から抽出したゲノムDNAに対し制限酵素処理を行いました。
図6はマウスの尾、肝臓、肺、腎臓から抽出したゲノムDNA 17μlに対し、EcoRIを用いて、制限酵素処理を行った結果の電気泳動図です。

図6



番号	サンプル
1	尾
2	肝臓
3	肺
4	腎臓

M：マーカー（1Kb Plus DNA Ladder：Invitrogen社製）
泳動条件：0.5% Agarose/1×TAE

EcoRIによるゲノムDNAの切断が電気泳動で確認できました。

＊トレードマークと免責事項
本取扱説明書に使用されている登録名などは、特に表示がない場合でも法律によってその権利が保証されています。

FUJIFILM

● 製造・販売元
富士フイルム株式会社

● 製品に関するお問い合わせ
東京本社
ライフサイエンス事業部
〒 107-0052 東京都港区赤坂 9-7-3 ミッドタウン・ウェスト
TEL 03-6271-2158　FAX 03-6271-3136
e-mail: sginfo@fujifilm.co.jp

[URL] http://lifescience.fujifilm.com/

FPT-709101-FP-1
DT-S-JE-A016369-LS事0701-1

FUJIFILM

Life Science

HANDBOOK

QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)

For extraction of genomic DNA from tissues

Ver.3.1

Contents

1. Introduction 4

2. Kit Components and Storage Conditions 4

   2-1 Kit Components (96 Preps) 4

   2-2 Storage Conditions 4

3. Other Required Materials, Not Supplied in This Kit 5

4. Safety Warnings 6

5. Precautions 7

6. Quality Control 9

7. Product Description 9

8. Protocol 9

   [Overview Flow Chart] 9

   8-1 Preparations of Reagents 10

   8-2 Lysate Preparation Protocol 11

   8-3 Extraction Protocol with QG-810/QG-800 16

   8-4 Extraction Protocol with QG-Mini80 19

9. Troubleshooting 24

10. Ordering Information 29

Appendix 1 Setting of QG-810 Parameter 30

Appendix 2 Setting of QG-800 Parameter 31

Appendix 3 Examples of the Data with QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) ... 32

Warning For research use only.
Not recommended or intended for diagnostic or clinical application for humans or animals.

1. Introduction

FUJIFILM Corporation developed and patented an evolutionary, porous membrane to immobilize nucleic acid. Because of its large specific surface area and uniform & fine porousness, QuickGene successfully extracts genomic DNA with high yield; moreover, with its patented thin membrane, it eliminates most contaminants.
QuickGene also uses pressured filtration technology, which cannot be successfully utilized with typical glass membranes; by using pressured filtration technology, new, compact and automatic instruments for rapid nucleic acid purification can be produced successfully.

When using this kit with QuickGene, high quality and high yield genomic DNA can be extracted and also purified from tissue samples. No hazardous organic solvents such as phenol and chloroform are used. Genomic DNA from 8 sets of tissue lysate samples can be simultaneously extracted in following time.
QuickGene-810/QuickGene-800 (QG-810/QG-800) : about 13 min
QuickGene-Mini80 (QG-Mini80) : about 9 min
The purified, high quality genomic DNA is suitable for PCR, restriction enzyme digestion, Southern blotting and other applications.

Please be sure to read the User's Guide of QuickGene carefully before using this kit.

2. Kit Components and Storage Conditions

2-1 Kit Components (96 Preps)

☐ Proteinase K	EDT	2.5 ml
☐ Tissue Lysis Buffer	MDT	25 ml
☐ Lysis Buffer	LDT	30 ml
☐ Wash Buffer	WDT	160 ml
☐ Elution Buffer	CDT	100 ml
☐ Cartridges	CA	96
☐ Collection Tubes	CT	96
☐ Caps	CAP	96
☐ Waste Tubes	WT	96

2-2 Storage Conditions

All reagents are stable for one year after purchase at room temperature (15-28°C).
We suggest keeping EDT at 2-8°C to prolong its life.

3. Other Required Materials, Not Supplied in This Kit

[1] Reagents

- >99% Ethanol (for preparation of lysate and WDT working solution)

* Prepare if necessary

- RNase A [Recommended products are listed as below.]
  - Ribonuclease A (Sigma Cat. No. R5125 *1, *2 / R5500 *1, *2 / R6513 *1, / R4642)
  - Ribonuclease A (MP Biomedicals Cat. No. 101076 *1, *2)
  - RNase A (AMRESCO Cat. No. 0675 *1, *2)
  - RNase A (QIAGEN Cat. No. 19101)
  - RNase A (Invitrogen Cat. No. 12091)

*1: Prepare 100 mg/ml solution with 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) and 15 mM NaCl
*2: Incubate at 100°C for 15 min to deactivate DNase

[2] Equipments

- QuickGene
- Centrifuge tubes*1 (Large/Small sets)
- Micropipettes and tips
- 1.5 ml microtubes
- 2 ml microtubes
- Tube stand
- Vortex mixer (maximum speed at 2,500 rpm or more)
- Microcentrifuge (c.a. 8,000 × g (10,000 rpm))
- Rotary shaker with heater (for tissue lysis at 55°C)
- Heat block or water bath (at 70°C)*2

*1 Centrifuge tubes are used with the QG-810/QG-800 as containers for WDT and CDT. They are unnecessary when QG-Mini80 is used.
*2 It is unnecessary when extracting genomic DNA from mouse tail.

Recommendation product of centrifuge tubes are following Table 1.
Use centrifuge tubes according to the number of Cartridges to use.

Table 1 Recommended centrifuge tubes (In case of QG-810/QG-800)

Size of Buffer Stand (Centrifuge Tube Holder)	The number of Cartridges	Type of centrifuge tube	Product name (Examples)
Standard	-16	Large centrifuge tube (for WDT)	BD Falcon™ 50 ml conical tube
		Small centrifuge tube (for CDT)	BD Falcon™ 15 ml conical tube
Large	-72	Large centrifuge tube (for WDT)	BD Falcon™ 175 ml conical tube
		Small centrifuge tube (for CDT)	BD Falcon™ 50 ml conical tube

4. Safety Warnings

Warning For research use only.
Not recommended or intended for diagnostic or clinical application for humans or animals.

- All reagents and items should be considered chemically and biologically hazardous. Wearing a laboratory coat, disposable gloves and safety goggles during the experiments are highly recommended. In case of contact between the reagents and the eyes, skin, or clothing, wash immediately with water.
  (See the Material Safety Data Sheet for specific recommendations, http://lifescience.fujifilm.com/)

◆ EDT (Proteinase K)
- Do not drink or ingest. Avoid contact with eyes.
- If contact with eyes, skin, or clothing occurs, rinse thoroughly with water. Consult a physician if necessary.

◆ MDT (Tissue Lysis Buffer)
- Do not drink or ingest. Avoid contact with eyes.
- If contact with eyes, skin, or clothing occurs, rinse thoroughly with water. Consult a physician if necessary.
- Wear a laboratory coat, gloves and safety goggles during experiments.

◆ LDT (Lysis Buffer)
- **Harmful if ingested.**
- Do not drink or ingest. Avoid contact with eyes.
- If contact with eyes, skin or clothing occurs, rinse thoroughly with water. Consult a physician if necessary.
- Wear a laboratory coat, gloves and safety goggles during experiments.

◆ WDT (Wash Buffer)
- Do not drink or ingest. Avoid contact with eyes.
- If contact with eyes, skin or clothing occurs, rinse thoroughly with water. Consult a physician if necessary.

◆ CDT (Elution Buffer)
- Do not drink or ingest. Avoid contact with eyes.
- If contact with eyes, skin or clothing occurs, rinse thoroughly with water. Consult a physician if necessary.

◆ Use or storage of LDT at high temperature should be avoided.

◆ Any solution and waste fluid containing LDT should not be mixed with bleach.

◆ **In the case of using potentially infectious samples :**
Wear a suitable laboratory coat, disposable gloves and safety goggles during the experiments.

◆ **Disposal of waste fluid and consumables when using potentially infectious samples :**
After use, dispose potentially infectious samples and consumables by incineration, high-temperature decontamination, sterilization, or disinfection in accordance with applicable laws. When entrusting waste disposal to licensed hazardous waste disposal contractors, use specially controlled waste management forms (manifest), if applicable.

5. Precautions

◆ Handling of Starting Material

- QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) basically corresponds to genomic DNA extraction from 5 mg of animal tissue sample.

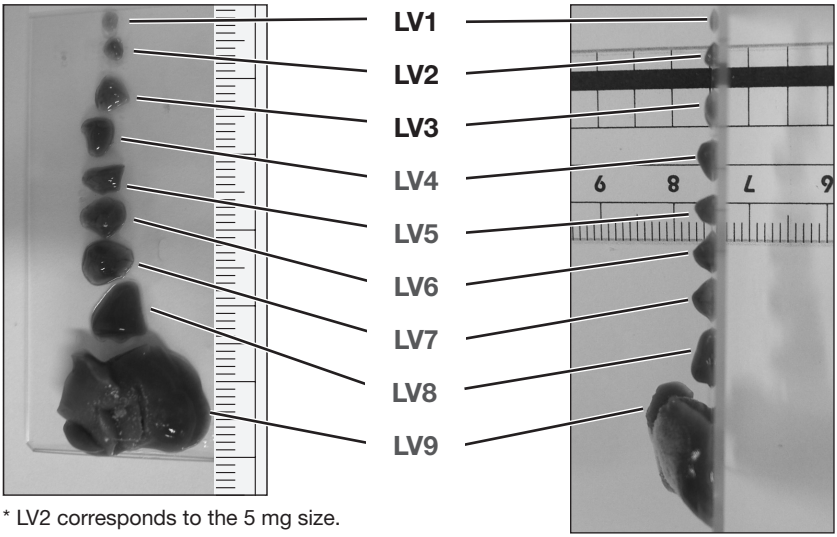
Table 2 Maximum amount of starting material
This is an example of a normal tissue of Balb/c mouse (female, 7-week old).

Tissue	Maximum amount
Liver	10 mg
Lung	10 mg
Kidney	10 mg
Tail	10 mg

- The maximum amount of tissue may vary depending on conditions and sites of tissue sample. The maximum amount of tissue may be decreased from the respective values shown in Table 2, depending upon the site, condition and digested state of a tissue sample.
- If you use QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) for the first time, start with 5 mg of tissue. Performing a preliminary test is recommended.
- Do not overload the Cartridge (CA), as this will significantly reduce genomic DNA yield and quality. In the worst case, the Cartridge may clog.
- RNA is purified together with genomic DNA. If contamination with RNA is not desired, perform RNase treatment.
- Keeping the tissues at room temperature for a long time and/or repeatedly freezing or thawing degrades the genomic DNA or lowers the yield.
- Figure 1 shows the relationship between the weight and the dimensions of samples of normal mouse tissue(liver). Please use this for reference.

Figure 1 : Relationship between the weight and the dimensions of samples of normal mouse tissue(liver).

No.	Weight	Long axis	Short axis	Height	
LV1	2.3 mg	1.5 mm	1.5 mm	0.5 mm	Range within the capacity
LV2	5.0 mg	2.0 mm	2.0 mm	1.0 mm	
LV3	11.6 mg	4.0 mm	4.0 mm	1.0 mm	
LV4	16.2 mg	5.0 mm	4.0 mm	2.0 mm	Out of application
LV5	21.7 mg	5.0 mm	3.5 mm	2.5 mm	
LV6	25.6 mg	6.0 mm	5.0 mm	2.5 mm	
LV7	30.7 mg	7.0 mm	5.0 mm	2.5 mm	
LV8	56.7 mg	8.0 mm	7.0 mm	2.5 mm	
LV9	850.2 mg	20.0 mm	14.0 mm	8.0 mm	



* LV2 corresponds to the 5 mg size.

◆ Use of Reagent

- If the precipitates are formed in MDT during storage, dissolve them fully by incubating at 55°C. Cool down it to room temperature before use.
- If the precipitates are formed in LDT during storage, dissolve them fully by incubating at 37°C. Cool down it to room temperature before use.
- Use or storage of LDT at high temperature should be avoided.
- Any solution and waste fluid containing LDT should not be mixed with bleach.

◆ Procedure of Extraction

- Use QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) at room temperature (15-30°C). In case of using at lower or higher temperature, it may affect the extraction performance.
- During the procedure, work quickly without interruption.
- We recommend starting preparation of lysate after setup of QuickGene. Refer to the following pages.
  QG-810/QG-800 : 8-3 (p.16), Appendix 1 (p.30) and Appendix 2 (p.31)
  QG-Mini80 : 8-4 (p.19)
- Refer to QuickGene User's Guide for the details.

6. Quality Control

- As part of the stringent quality assurance program in FUJIFILM Corporation, the performance of QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) is evaluated routinely on a lot-to-lot uniformity.
- QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) is checked for contaminations of other DNA, DNase and bacteria.
- Yield and quality of extracted genomic DNA are checked by measuring the absorbance at 260 nm, ratio of absorbance (260 nm/280 nm). Moreover, the ability of PCR amplification is guaranteed.

7. Product Description

QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) corresponds to the extraction of genomic DNA from animal tissue, basically 5 mg of tissue.
Table 3 shows examples of genomic DNA yield and purity when this kit is used for extraction from normal mouse tissue (A260/280).

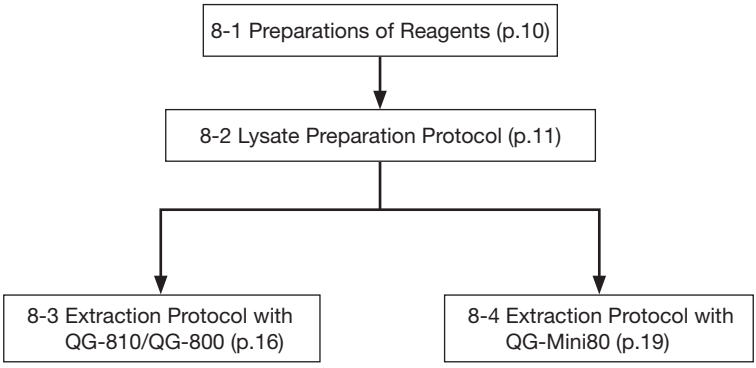
Table 3 Examples of Yields and purities of genomic DNA obtained from normal tissues of Balb/c mouse (female, 7-week old), with RNase treatment.

Tissue	Example of yields from 5 mg	A260/280
Liver	4.5 µg	1.88
Tail	4.0 µg	1.92

- Yields and purity may vary depending on the sample species, condition and tissue type.
- Repeatedly freezing or thawing degrades the genomic DNA or lowers the yield.
- RNA is purified together genomic DNA. If contamination with RNA is not desired, perform RNase treatment.
- When treating tissue rich in RNA such as a liver with RNase under standard protocol, RNA digestion may incomplete. The conditions for using RNase should be investigated.
- The default volume of CDT is 200 µl. The minimum elution volume is 50 µl, however the efficiency of elution may decrease when the volume collected is very small.

8. Protocol

[Overview Flow Chart]


8-1 Preparations of Reagents (p.10)
8-2 Lysate Preparation Protocol (p.11)
8-3 Extraction Protocol with QG-810/QG-800 (p.16)
8-4 Extraction Protocol with QG-Mini80 (p.19)

8-1 Preparations of Reagents

◆ EDT (2.5 ml)

We suggest keeping EDT at 2-8°C to prolong its life.

◆ MDT (25 ml)

Mix thoroughly before use.
If the precipitates are formed, dissolve them fully by incubating at 55°C. Cool down it to room temperature before use.

◆ LDT (30 ml)

Mix thoroughly before use.
If the precipitates are formed, dissolve them fully by incubating at 37°C. Cool down it to room temperature before use.

◆ WDT (160 ml)

WDT is supplied as a concentrate.
Add 160 ml of >99% ethanol into the bottle and mix by gently inverting the bottle before use.
After adding ethanol, enter a check in the [ethanol added?] check box on bottle cap label.
Close the cap firmly to prevent volatilizing.

◆ CDT (100 ml)

Use CDT for elution of genomic DNA.

◆ RNase A (When performing a RNase treatment)

RNase A is not supplied in this kit. Prepare according to 3-[1] (p.5).

◆ Required volume of WDT (>99% ethanol added) and CDT (in case of using a QG-810/QG-800)

Prepare the required volume of WDT and CDT into the tubes (see Table 1 p.5) : set them to Buffer Stand.

Table 4 Required volume of WDT and CDT

Number of Cartridges	WDT (QG-810/QG-800)	CDT (QG-810)	CDT (QG-800)
8	26 ml	9 ml	8 ml
16	44 ml	11 ml	11 ml
24	62 ml	13 ml	13 ml
32	80 ml	15 ml	15 ml
40	99 ml	17 ml	17 ml
48	117 ml	19 ml	19 ml
56	135 ml	21 ml	21 ml
64	154 ml	22 ml	22 ml
72	172 ml	24 ml	24 ml

*Required volume of discharge
QG-810 : WDT 8.0 ml, CDT 7.4 ml
QG-800 : WDT 8.0 ml, CDT 6.4 ml
Depending on the number of the Cartridges, add WDT and CDT.
Use WDT 2.25 ml and CDT 200 µl per 1 Cartridge.
For example, in case of using 2 Cartridges, 12.5 ml of WDT, 7.8 ml of CDT (QG-810) and 6.8 ml of CDT (QG-800) are required.
*Use appropriate tubes according to Table 1 (p.5).

8-2 Lysate Preparation Protocol

QuickGene DNA tissue kit S (DT-S) basically corresponds to the extraction of genomic DNA from 5 mg of animal tissues.

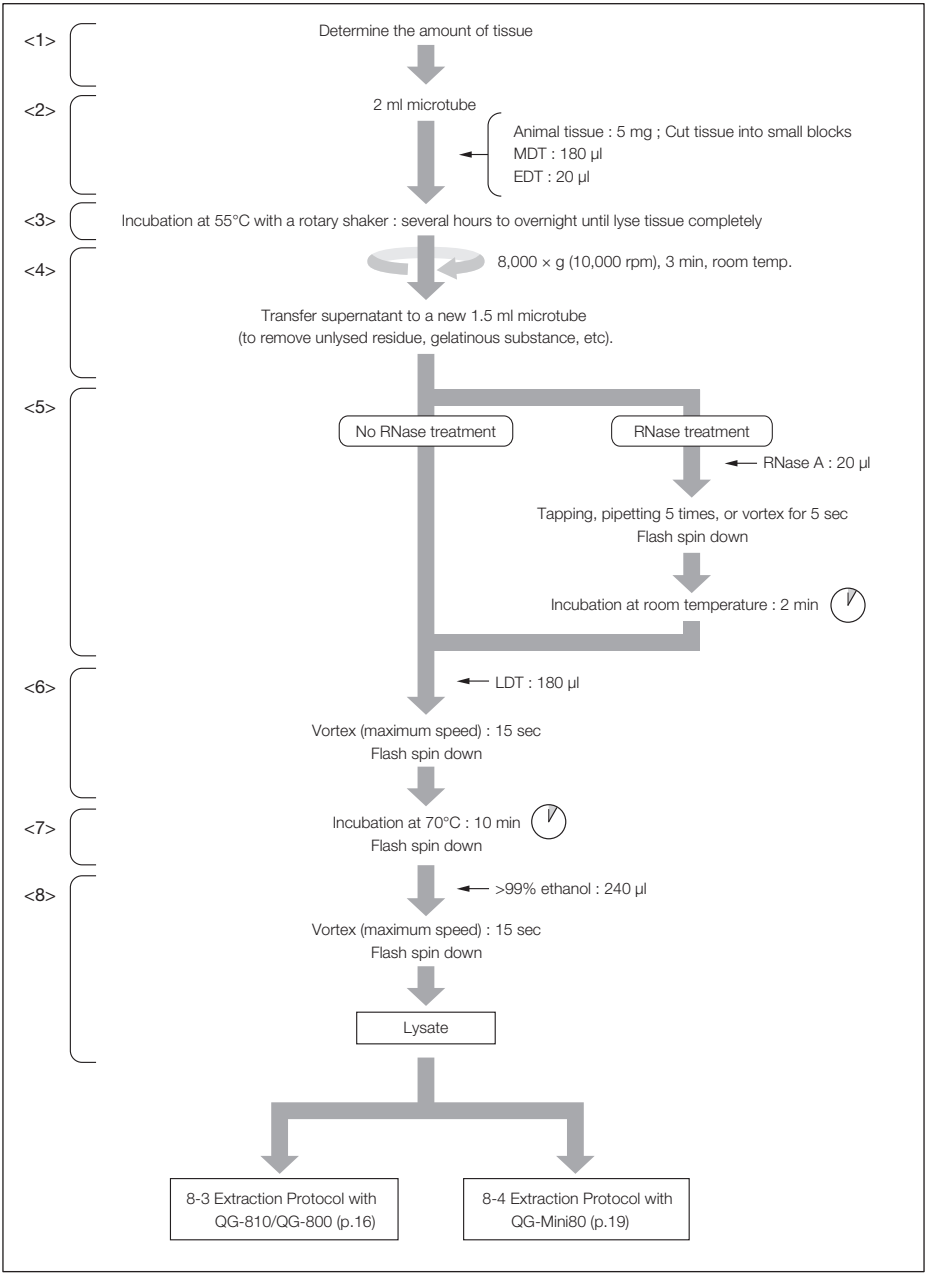
[Important notes before starting]
- Cool down all reagents to room temperature before use.
- Set the temperature of the shaker to 55°C (it is used in step <3> p.13, 15).
- For extraction from animal tissue (other than mouse tail), the temperature of the heat block or water bath should be set at 70°C.
- Follow the volume of samples and buffers described in the workflow (p.12, 14).
- Following collection of tissue from animals, the prescribed volume of the tissue should be immediately immersed in MDT.
- If the tissue sample is not used immediately, the tissue should be flash frozen with liquid nitrogen and stored at –20°C or –80°C.
- Do not allow tissue to stand at room temperature. Repeatedly freezing or thawing should be avoided. Genomic DNA may degrade.
- To prevent cross-contamination, it is recommended to change the pipette tips between all liquid transfers.
- Any solution and waste fluid containing LDT should not be mixed with bleach.
- During the procedure, work quickly without interruption.
- When using potentially infectious samples for experiments, dispose them according to the applicable regulations.

[Preparations for starting the experiment]
- WDT is supplied as a concentrate. Check that 160 ml of >99% ethanol is added to WDT before starting an experiment.

As protocols are different between the case of animal tissue and mouse tail, refer to the appropriate protocol.

For animal tissue : p.12
For mouse tail : p.14

Animal Tissue : Lysate Preparation Workflow


<1>
Determine the amount of tissue
<2>
2 ml microtube
Animal tissue : 5 mg ; Cut tissue into small blocks
MDT : 180 µl
EDT : 20 µl
<3>
Incubation at 55°C with a rotary shaker : several hours to overnight until lyse tissue completely
<4>
8,000 × g (10,000 rpm), 3 min, room temp.
Transfer supernatant to a new 1.5 ml microtube
(to remove unlysed residue, gelatinous substance, etc).
<5>
No RNase treatment
RNase treatment
RNase A : 20 µl
Tapping, pipetting 5 times, or vortex for 5 sec
Flash spin down
Incubation at room temperature : 2 min
<6>
LDT : 180 µl
Vortex (maximum speed) : 15 sec
Flash spin down
<7>
Incubation at 70°C : 10 min
Flash spin down
<8>
>99% ethanol : 240 µl
Vortex (maximum speed) : 15 sec
Flash spin down
Lysate
8-3 Extraction Protocol with QG-810/QG-800 (p.16)
8-4 Extraction Protocol with QG-Mini80 (p.19)

Animal Tissue : Details of Lysate Preparation Workflow

<1> Prepare a fresh or frozen tissue sample excised from animal.
Use the prescribed amount of tissue (in principle, 5 mg).

Excessive amounts of tissue sample results in clogging, low yield, and low purity. In case of clogging, reduce the sample amount.
Do not leave tissue at room temperature, as it might cause genomic DNA degradation.

<2> Cut tissue into small blocks 1.5 to 2 mm square using a pair of scissors, a hammer, and weigh the tissue into 2 ml microtube. Add 180 µl of MDT and subsequently 20 µl of EDT.

In case of using frozen tissue, add MDT immediately after thawing the tissue to room temperature.
In case of using fresh tissue, immediately add MDT to the tissue.

<3> Lyse the tissue completely with stirring at 55°C. If not stirring, imperfect lysing of some part may occur. If possible, stir with a rotary shaker with a heater. Or lyse tissue well by warming with occasionally vortexing.

The lysis time varies depending upon the types of tissue. For example, in the cases of brain, lung and kidney, take about 16 hours and in the case of liver, take about 3 hours. If tissue is lysed incompletely, extend the time.

<4> In order to remove unlysed portions, centrifuge at 8,000 × g (approximately, 10,000 rpm) at room temperature for 3 min. Transfer the supernatant to a new 1.5 ml microtube without sucking in the unlysed portion of tissue (unlysed residue, gelatinous substance, etc.).

<5> RNase treatment

RNA is copurified with genomic DNA. If contamination with RNA is not desired, perform a RNase treatment. Without RNase treatment, proceed to <6>.
Add 20 µl of RNase A (in the case of Cat. No. 12091 (Invitrogen), 60 µl). Mix RNase A well with the sample fluid by tapping, or pipetting 5 times, vortexing for 5 sec. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid. Incubate at room temperature for 2 min.

Use a recommended RNase A. If using RNase A with DNase activity, perform the denaturation of DNase (100 °C,15 min) (3-[1] p.5).
Depending upon the types of tissue, RNA contents vary. In the case of tissue with low contents of RNA, it is possible to reduce the amount of RNase A to be used.

<6> Add 180 µl of LDT to the sample, and vortex at the maximum speed for 15 sec. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid.

When mixing LDT by vortexing is incomplete, mix well by tapping, pipetting, or inversion, etc. A white precipitate may form by addition of LDT, which in most cases will dissolve during the incubation at 70°C.

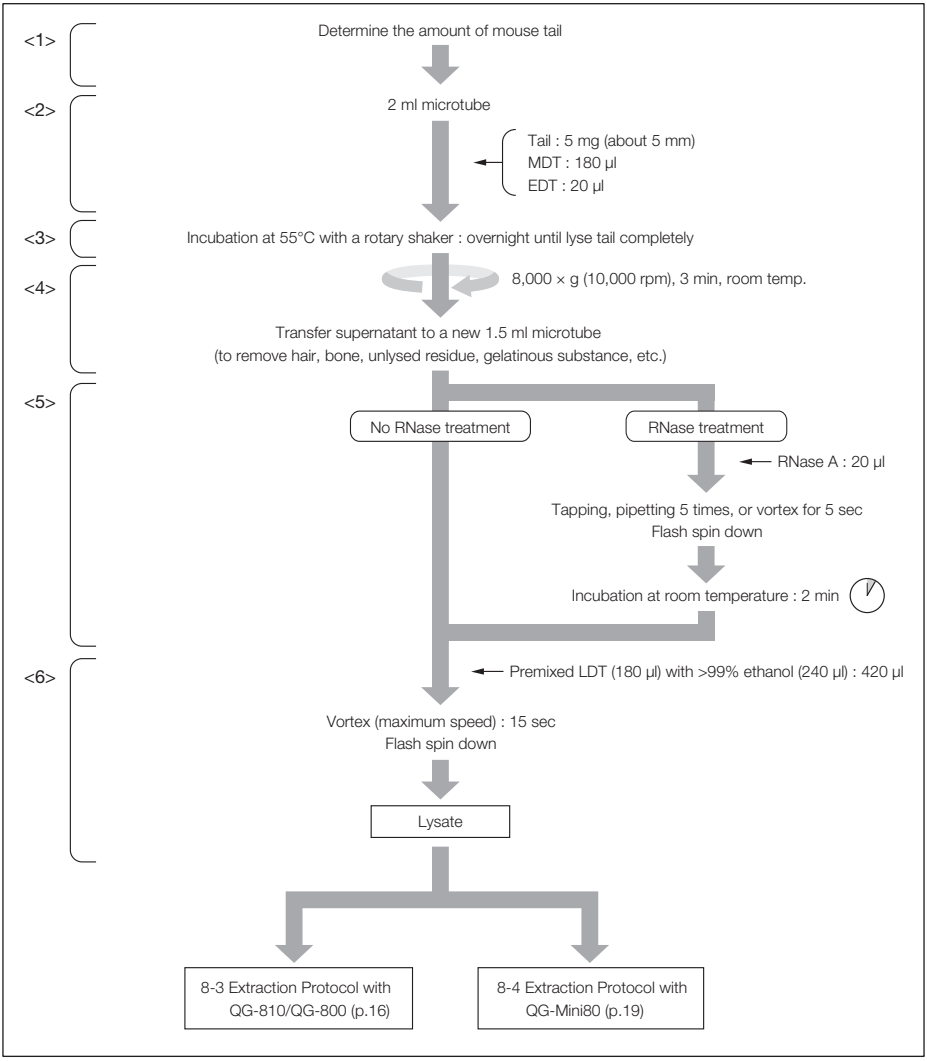
<7> Incubate at 70°C for 10 min. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid.

<8> Add 240 µl of >99% ethanol, and vortex at the maximum speed for 15 sec. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid.

When mixing is inadequate, mix well by tapping, or pipetting, or upside-down mixing, etc.

Perform the extraction operation quickly after completion of lysis.
QG-810/QG-800 (p.16)
QG-Mini80 (p.19)

Mouse Tail : Lysate Preparation Workflow


<1>
Determine the amount of mouse tail
<2>
2 ml microtube
Tail : 5 mg (about 5 mm)
MDT : 180 µl
EDT : 20 µl
<3>
Incubation at 55°C with a rotary shaker : overnight until lyse tail completely
<4>
8,000 × g (10,000 rpm), 3 min, room temp.
Transfer supernatant to a new 1.5 ml microtube
(to remove hair, bone, unlysed residue, gelatinous substance, etc.)
<5>
No RNase treatment
RNase treatment
RNase A : 20 µl
Tapping, pipetting 5 times, or vortex for 5 sec
Flash spin down
Incubation at room temperature : 2 min
<6>
Premixed LDT (180 µl) with >99% ethanol (240 µl) : 420 µl
Vortex (maximum speed) : 15 sec
Flash spin down
Lysate
8-3 Extraction Protocol with QG-810/QG-800 (p.16)
8-4 Extraction Protocol with QG-Mini80 (p.19)

Mouse Tail : Details of Lysate Preparation Workflow

<1> Prepare a fresh or frozen tail excised from a mouse.
Use the prescribed amount of tail (in principle, 5 mg).

Excessive amounts of tissue sample results in clogging, low yield, and low purity. In case of clogging, reduce the sample amount.
5 mg of mouse tail corresponds to about 5 mm in length, but it differs depending upon mouse types, age, etc.
Do not leave tissue at room temperature, as it might cause genomic DNA degradation.

<2> Cut the tail into small pieces and weigh the tail into 2 ml microtube. Add 180 µl of MDT and subsequently 20 µl of EDT.

In case of using frozen tissue, add MDT immediately after thawing the tissue to room temperature.
In case of using fresh tissue, immediately add MDT to the tissue.

<3> Lyse the tail completely with stirring at 55°C. If not stirring, imperfect lysing of some part may occur. If possible, stir with a rotary shaker with a heater. Or lyse the tail well by warming with occasionally vortexing.

The lysis time varies depending upon condition and age of the mouse. In the case of 7-week-old, female mouse, it will take about 16 hours. If tail is lysed incompletely, extend the time.

<4> In order to remove unlysed portions, hairs, bones etc., centrifuge at 8,000 × g (approximately, 10,000 rpm) at room temperature for 3 min. Transfer the supernatant to a new 1.5 ml microtube without sucking in the unlysed portions of tail (hairs, bones, unlysed residues and gelatinous substances).

<5> RNase treatment

RNA is copurified with genomic DNA. If contamination with RNA is not desired, perform a RNase treatment. Without RNase treatment, proceed to <6>.
Add 20 µl of RNase A (in the case of Cat. No. 12091 (Invitrogen), 60 µl). Mix RNase A well with the sample fluid by tapping, or pipetting 5 times, or vortexing for 5 sec. Flash spin down for several seconds to remove the drops from the inside of the lid. Incubate at room temparature for 2 min.

Use a recommended RNase A. If you use RNase A with DNase activity, perform the denaturation of DNase (100°C,15 min) (3-[1] p.5).
Depending upon the conditions of tail, RNA contents vary. In the case of tail with low contents of RNA, it is possible to reduce the amount of RNase A to be used.

<6> Mix completely 180 µl of LDT and 240 µl of >99% ethanol in advance.
Add a mixture (420 µl) of LDT with ethanol to the sample, and vortex at the maximum speed for 15 sec. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid.

When mixing is inadequate, mix well by tapping, or pipetting, or upside-down mixing, etc.

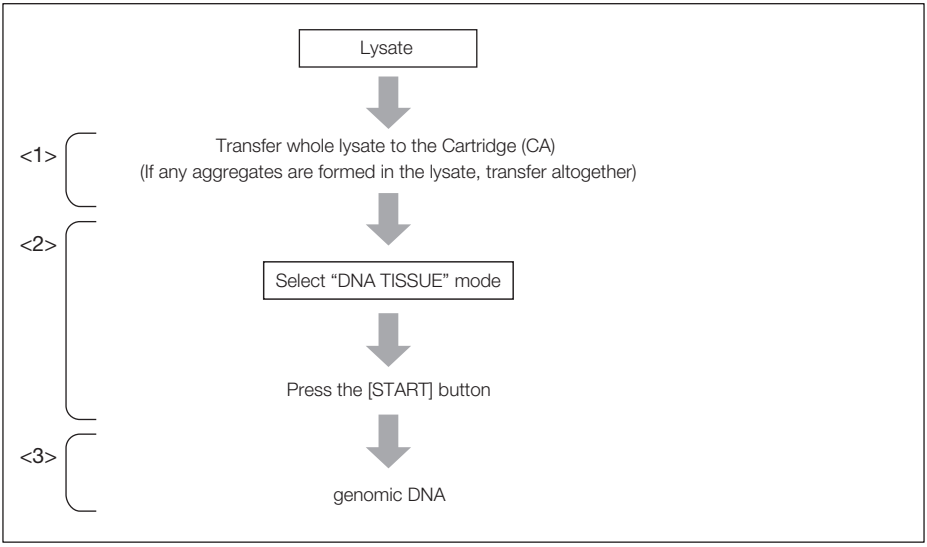
Perform the extraction operation quickly after completion of lysis.
QG-810/QG-800 (p.16)
QG-Mini80 (p.19)

8-3 Extraction Protocol with QG-810/QG-800

- Please read the User's Guide of QG-810/QG-800 for the details before using the system.
- Check that 160 ml of >99% ethanol is added to WDT before starting an experiment.
- Select "DNA TISSUE" mode as the extraction mode for QG-810/QG-800.
- All reagents, Cartridges (CA) and tubes are manufactured in clean rooms. Wear gloves during the experiments to avoid nuclease contamination.
- Refer to the User's Guide of QG-810/QG-800 for details of setting Cartridges (CA), tubes and each reagent.
- Open the front cover of QG-810/QG-800 and set the Collection Tubes (CT) and the Waste Tubes (WT) in the Tube Holder (or Collection Tube Holder). Use the specified Cartridges (CA).
- Set WDT (>99% ethanol added) and CDT to QG-810/QG-800 referring to p.10.
- Incorrect Cartridge (CA) placement may result in the solution spilling or improper extraction.
- Press the [DISCHARGE] button after closed the front cover of QG-810/QG-800. Because of air in the lines, incorrect volume of reagents may occur without discharge operation.

- Avoid touching the filter in the Cartridge (CA) with the pipette tip.
- Any solution and waste fluid containing LDT should not be mixed with bleach.
- When using potentially infectious samples for experiments, dispose them according to the applicable regulations.

QG-810/QG-800 Workflow


Lysate
<1>
Transfer whole lysate to the Cartridge (CA)
(If any aggregates are formed in the lysate, transfer altogether)
<2>
Select “DNA TISSUE” mode
Press the [START] button
<3>
genomic DNA

Details of QG-810/QG-800 Workflow

<1> <Applying lysate> Carefully transfer the whole lysate (See section 8-2 p.11-15) to the each Cartridge (CA).

If any aggregates are formed in the lysate, transfer altogether with the aggregates to the Cartridge.
Perform the extraction operation quickly after completion of lysate. It is possible to leave it until 30 min if necessary.

<2> <Extraction> Select the appropriate mode for this kit. In case of confirming the setting of parameter, refer to Appendix 1 (p.30), Appendix 2 (p.31). Close the front cover of QG-810/QG-800. Confirm the appropriate mode on the operation panel and press the [START] button.

The operation panel shows “PROCESSING” (QG-810) or “EXECUTING” (QG-800) during extracting. In case of using QG-810, extraction progress can be checked by blinking of each lamp (BINDING, WASHING, ELUTION).

Warning Do not open the front cover during the extraction process (while “PROCESSING” or “EXECUTING” is shown on the operation panel). If the front cover is opened, the extraction process will be halted. Confirm it by Table 5.

Table 5 Movement when you opened a front cover during extraction

	QG-810	QG-800
Extraction process	Stop	Stop
Extraction continuation	Possible*1	Impossible*2

*1 QG-810 : See User’s Guide of QG-810, “3.5 Operations to Restart Program from Pause” (p.28).
*2 QG-800 : The sample that was on the way of the extraction cannot be used again. Discard according to the applicable regulations. Refer to “Disposal of waste fluid and consumables when using potentially infectious samples of this handbook (p.6).

<3> <Extraction completion>
Operation panel displays the extraction results.

Table 6 Extraction result

	QG-810	QG-800	Remarks
Successfully extracted	v (Check)	○	
Extraction failure	- (Hyphen)	×	Cartridge is clogged
No Cartridge, or No sample	_ (Underscore)	▲	No Cartridge or occurrence of error before extraction

Open the front cover and remove the Collection Tubes (CT) from the Tube Holder after QG-810/QG-800 completely stopped.
The volume of the eluate from each Cartridge (CA) will be 200 µl.

The volume of CDT can be reduced to 50 µl, but in that case, elution efficiency might decrease by about 30%.
In case the extracted genomic DNA is not used immediately, close the cap of the 1.5 ml microtube tightly, and store at 4°C. In case of storing genomic DNA for a long time, it is recommended to preserve at –20°C.

<4> Remove the Waste Tubes (WT) and dispose the waste fluid according to applicable regulations.
Remove the Cartridge Holder and dispose the Cartridges (CA).
Dispose the fluid in the Discharge Tray also.

8-4 Extraction Protocol with QG-Mini80

- Please read the User's Guide of QG-Mini80 for the details before using the system.
- Check that 160 ml of >99% ethanol is added to WDT before starting an experiment.
- Set Waste Tubes (WT) into the Tube Holder.
- Set Tube Adapters to the Tube Holder, and set the Collection Tubes (CT). In substitution for Collection Tubes, you can use 1.5 ml microtubes. In this case Tube Adapters are unnecessary.
- Insert the Cartridge Holder into the Wash Position (W) of the Tube Holder. Then set Cartridges (CA) to the Cartridge Holder. Confirm the Release Lever is positioned at the left-hand end of the Cartridge Holder.

- When setting the Cartridge Holder and the Tube Holder to QG-Mini80, insert to the end.
- When pressuring lysates and WDT (>99% ethanol added), confirm that the Wash Label on the Tray can be entirely seen.
- When pressuring CDT, confirm that the Wash Label on the Tray can not be seen, being hidden below the Tube Holder.

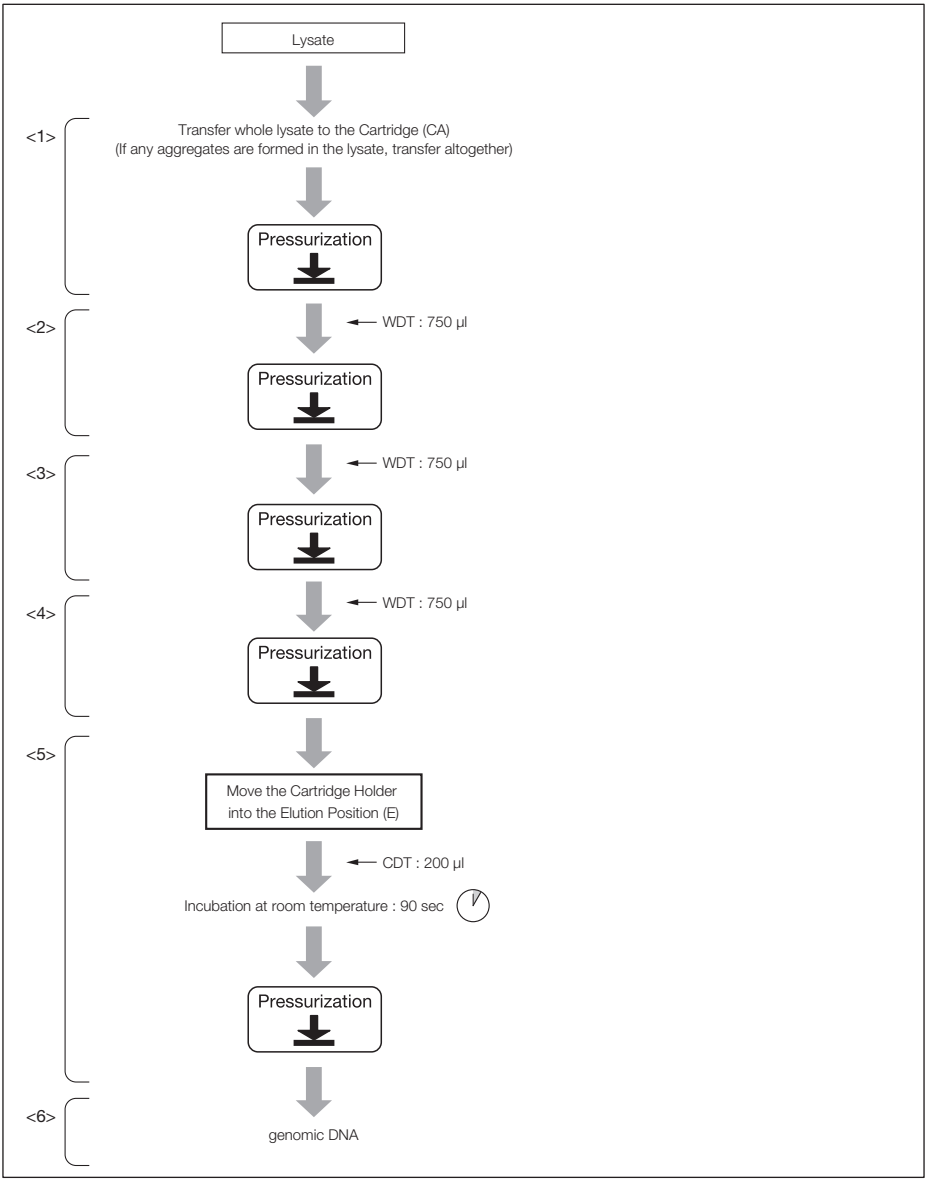
- If after repeated compression fluid remains in any Cartridges (CA), the Cartridges should be removed, and the steps shown in Troubleshooting ((2) p.25) taken.

- Avoid touching the filter in the Cartridge (CA) with the pipette tip.
- Any solution and waste fluid containing LDT should not be mixed with bleach.
- When using potentially infectious samples for experiments, dispose them according to the applicable regulations.

QG-Mini80 Workflow

The pressurization mark “Pressurization” in the workflow indicates the following operations.

1. Set the Cartridge Holder and the Tube Holder in QG-Mini80.
2. Rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges.
3. Make sure that no liquid remains in the Cartridges (CA) and then return the Rotary Switch to the original position.
4. Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder from QG-Mini80.



Details of QG-Mini80 Workflow

<1> <Applying Lysate> Carefully transfer the whole lysate prepared at 8-2 (p.11-15) to each Cartridge (CA). Set the Cartridge Holder and the Tube Holder into QG-Mini80. After setting it, check the Wash Label can be seen.
Rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges.
Make sure that no lysate remains in the Cartridges and then return the Rotary Switch to the original position.

If any aggregates are formed in the lysate, transfer altogether with the aggregates to the Cartridges.
After lysate is prepared, perform extraction as soon as possible. It is possible to leave it until 30 min if necessary.
Pressure application automatically stops in about 1 min. If any lysate remains in the Cartridges even after about 1 min has elapsed, return the Rotary Switch to the original position and then rotate it toward the front side to put pressurized air into the Cartridges again.

<2> <First wash> Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder and then apply 750 µl of WDT to the Cartridges (CA). Set the Cartridge Holder and the Tube Holder into QG-Mini80. After setting it, check the Wash Label can be seen. Rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges.
Make sure that no WDT remains in the Cartridges and then return the Rotary Switch to the original position.

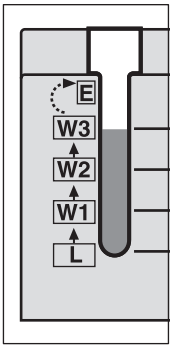
Pressure application automatically stops in about 1 min. If any WDT remains in the Cartridges even after about 1 min has elapsed, return the Rotary Switch to the original position and then rotate it toward the front side to put pressurized air into the Cartridges again.

<3> <Second wash> Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder and then apply 750 µl of WDT to the Cartridges (CA). Set the Cartridge Holder and the Tube Holder into QG-Mini80. After setting it, check the Wash Label can be seen. Rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges.
Make sure that no WDT remains in the Cartridges and then return the Rotary Switch to the original position.

Pressure application automatically stops in about 1 min. If any WDT remains in the Cartridges even after about 1 min has elapsed, return the Rotary Switch to the original position and then rotate it toward the front side to put pressurized air into the Cartridges again.

<4> <Third wash> Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder and then apply 750 µl of WDT to the Cartridges (CA). Set the Cartridge Holder and the Tube Holder into QG-Mini80. After setting it, check the Wash Label can be seen. Rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges.
Make sure that no WDT remains in the Cartridges and then return the Rotary Switch to the original position.

Pressure application automatically stops in about 1 min. If any WDT remains in the Cartridges even after about 1 min has elapsed, return the Rotary Switch to the original position and then rotate it toward the front side to put pressurized air into the Cartridges again.
After third wash, the waste fluid scale of the Tube Holder indicates [W3] position. (Refer to the following illustration)
Do not add WDT four or more times. The contamination might be caused the waste fluid touching the Cartridges, or the waste fluid might overflow from the Waste Tubes.

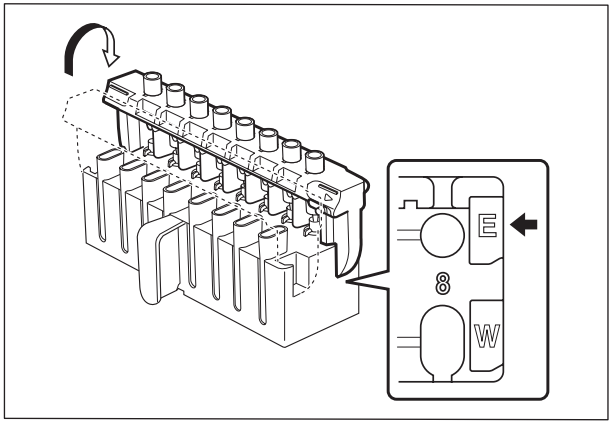


<5> <Elution> Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder and then insert the Cartridge Holder into the Elution Position (E) of the Tube Holder. Do not touch the Release Lever. Apply 200 µl of CDT to the Cartridges (CA) and then set the Cartridge Holder and the Tube Holder in QG-Mini80. After setting it, check the Wash Label cannot be seen by hiding under the Tube Holder.

After incubating at room temperature for 90 sec, rotate the Rotary Switch toward the front side to apply air pressure to the Cartridges. Make sure that no CDT remains in the Cartridges and then return the Rotary Switch to the original position.

Pressure application automatically stops in about 1 min. If any CDT remains in the Cartridges even after about 1 min has elapsed, return the Rotary Switch to the original position and then rotate it toward the front side to put pressurized air into the Cartridges again.

The volume of CDT can be reduced to 50 µl, but in the case, elution efficiency might decrease by about 30%.



<6> Pull out the Cartridge Holder and the Tube Holder. Remove the Cartridge Holder from the Tube Holder and then dispose the Cartridges (CA). When sliding the Release Lever to the right-hand end, all Cartridges will fall down. Remove the Collection Tubes and then insert the Collection Tubes into the Tube Rack (optional) and then put Caps (CAP).

When the Tube Rack is not used, remove the Collection Tubes after putting Caps on them.

When using commercially available 1.5 ml microtubes : Put caps on 1.5 ml microtubes and then remove them.

Dispose the Waste Tubes and waste fluid according to appropriate laws and rules.

In case the extracted genomic DNA is not used immediately, close the cap of the 1.5 ml microtube tightly, and store at 4°C. In case of storing genomic DNA for a long time, it is recommended to preserve at –20°C.

9. Troubleshooting

Review the information below to troubleshoot the experiments with QuickGene DNA tissue kit S (DT-S).

(*) : For QG-810/QG-800
(**) : For QG-Mini80

(1) Low yield or no DNA obtained :

Cause	Action
Inappropriate storage conditions for the tissue sample	Yield of genomic DNA varies depending upon the type, bulkiness, amount, storage period and storage conditions of a sample. Store sample under appropriate conditions. As soon as a tissue sample is excised from an animal, soak in MDT immediately or flash frozen with liquid nitrogen and store at –20°C or –80°C.
Imperfect lysing tissue	Soak tissue completely in MDT and EDT to lyse. When lysing, cut tissue into small pieces. Perform shaking with a rotary shaker with a heater. In case no shaker is used, incubate at 55°C with occasionally vortexing. Extend an incubation time for lysing as needed. In the case where a tissue amount exceeds 5 mg and the sample is to be extracted for the first time with QuickGene DNA tissue kit S (DT-S), adjust the ratio of EDT to MDT for every 5 mg of tissue sample by proportional, so that it is 20 µl : 180 µl. When mixing LDT (180 µl for animal tissue and 420 µl of a mixture of LDT and >99% ethanol for mouse tail) with the after tissue lysis, transfer 200 µl of the supernatant after centrifugation.
After lysing of 5 mg of mouse tail with MDT and EDT overnight, the resulting lysate becomes gel-like	Incubate with stirring during tissue lysis. Perform stirring and mixing by setting down stoppered sample tube sidelong and using a shaking incubator, hybridization oven, etc. as it enables good mixing. In case stirring is imperfect, a transparent gel-like substance appears, but dissolve it by mixing well with a vortex, and then proceed to the next step.
Inappropriate addition order of reagents and sample	When preparing lysates, perform the additions to microtube in the following order : sample of tissue lysate → LDT → ethanol. In the case of tail, add LDT with >99% ethanol to the tissue lysate.
Inappropriate volume ratios of reagents	In case of making any loss of centrifuged supernatant after tissue lysis, adjust the volume to “supernatant : LDT : >99% ethanol = 200 : 180 : 240” and for the case of mouse tail to “supernatant : a mixture of LDT and >99% ethanol = 200 : 420”.
Rupture of filter	Be careful not to allow pipette tip to contact with a filter in Cartridge (CA).
Perform exceed pressurization (**)	Stop applying air pressure as soon as lysate and WDT is discharged. If exceed pressurization has performed, recovery may be improved the incubation time of elution to 4 min.
Leaving Cartridge (CA) after lysate or WDT are discharged (**)	Once extraction with the QG-Mini80 has been started, work quickly without interruption. If an interruption has occurred, recovery may be improved the incubation time of elution to 4 min.
Use of too much amount of a tissue sample	Refer to Table 2 (p.7) to reduce tissue amount to the prescribed one. In the case of mouse tail end, 5 mg corresponds to about 5 mm in length.
Insufficient vortexing after addition of LDT	Immediately after addition of LDT, vortex thoroughly (for 15 sec) at the maximum speed or invert the tube.
No addition of the prescribed volume of ethanol to WDT	Before using WDT for the first time, ensure that the prescribed volume of >99% ethanol has been added. (See section 8-1 p.10)
Incomplete addition of whole lysate to the Cartridge (CA)	If any aggregates are formed in the lysate, transfer altogether with the aggregates to the Cartridge.

Cause	Action
Inadequate volume of any buffer (*)	Confirm that the set volumes for each buffer to QG-810/QG-800 are adequate.
Inappropriate CDT volume (*)	QG-810/QG-800 : Confirm the parameters have been changed, particularly that the setting of the parameter of “ELUT VOL” (QG-810) or “CLCT VOL” (QG-800) is correct (it should be “200”). In addition, in case air bubbles still remain in the line of QG-810/ QG-800, discharge them. For setting of parameter, refer to User’s Guide of QG-810/ QG-800. QG-Mini80 : Confirm the amount of CDT is 200 µl.
Formation of a precipitate in reagents	Refer to (6) “A precipitate is formed in reagents”.
Use of reagents other than CDT to elute genomic DNA	Use CDT to elute genomic DNA.
Use of too old WDT (*)	Check if WDT (>99% ethanol added) setted in QG-810/QG-800 does not pass over 1 day.
DNA degradation	Refer to (3) “DNA degradation”.
Leaving Cartridges (CA) to stand after having discharged the fluid in it (**)	Once extraction with the QG-Mini80 has been started, work quickly without interruption.

(2) Clogging of Cartridge (CA) occurs :

Cause	Action
Use of too much amount of a tissue sample	Refer to Table 2 (p.7) to reduce tissue amount to the prescribed one. In the case of mouse tail end, 5 mg of mouse tail corresponds to about 5 mm in length.
Insufficient vortexing after addition of LDT	Immediately after addition of LDT, vortex thoroughly (for 15 sec) at the maximum speed or invert the tube.
Insufficient pressurization (**)	Pressurize once more.
Imperfect lysing tissue	Soak tissue completely in MDT and EDT to lyse. When lysing, cut tissue into small pieces. Perform shaking with a rotary shaker with a heater. In case no shaker is used, incubate at 55°C with occasionally vortexing. Extend an incubation time for lysing as needed.
Clogging by the unlysed tissue portion	After tissue lysis with MDT and EDT, centrifuge at 8,000 × g (10,000 rpm) for 3 min to remove unlysed tissue portion, and then add LDT.
QG-810/QG-800 : Operation panel of “– (QG-810)” or “× (QG-800)” is displayed, and failure to remove lysate or WDT completely (*) QG-Mini80 : Failure to remove lysate or WDT completely despite repeated pressurization (**)	Take a filter out of the clogged Cartridge (CA), and try the recovery of DNA according to p.28.
Leaving Cartridges (CA) to stand after having discharged the fluid in it (**)	Once extraction with the QG-Mini80 has been started, work quickly without interruption.
Use of reagents other than CDT to elute genomic DNA	Use CDT to elute genomic DNA.

(3) DNA degradation :

Cause	Action
Allowing tissue to stand at room temperature	As soon as a tissue sample is excised from an animal, soak in MDT immediately or flash frozen with liquid nitrogen and store at –20°C or –80°C.

(4) Purity of DNA is low :

Cause	Action
Improper washing procedure (**)	Wash 3 times with 750 µl of WDT.
Inappropriate addition order of reagents and sample	When preparing lysates, perform the additions to microtube in the following order : sample of tissue lysate → LDT → ethanol. In the case of tail, add LDT with ethanol to the tissue lysate.
Inappropriate volume ratio of reagents	In case of making any loss of centrifuged supernatant after tissue lysis, adjust the volume to "supernatant : LDT : >99% ethanol = 200 : 180 : 240" and for the case of mouse tail to "supernatant : a mixture of LDT and >99% ethanol = 200 : 420".
Insufficient vortexing after addition of LDT	Immediately after addition of LDT, vortex thoroughly (for 15 sec) at the maximum speed or invert the tube.
No addition of the prescribed volume of ethanol to WDT	Before using WDT for the first time, ensure that the prescribed volume of >99% ethanol has been added. (See section 8-1 p.10)

(5) Subsequent experiments such as PCR etc. do not proceed well :

Cause	Action
Inappropriate amount of DNA is used	Determine the DNA concentration based on the absorbance at 260 nm.
Low purity of DNA	Refer to (4) "Purity of DNA is low".
DNA degradation	Refer to (3) "DNA degradation".

(6) A precipitate is formed in reagents :

Cause	Action
Stored at low temperature	Store buffers at the prescribed temperature (15-28°C). If a precipitate is formed, dissolve the precipitate by incubation at 55°C for MDT and at 37°C for other solutions. Cool down it to room temperature before use.

(7) A white precipitate is formed after addition of LDT to ethanol, or after addition of a mixture of LDT + ethanol

Cause	Action
Low room temperature	This precipitate is dissolved by incubating at 55°C. Cool down it to room temperature before transfering to the Cartridge (CA).
Too much amount of tissue sample	Check that the amount of tissue sample is less than the prescribed amount (Table 2 p.7), and then add whole volume of lysate together with aggregates to Cartridge (CA).

(8) No sample is recovered in Collection Tube (CT) or 1.5 ml microtube (it is vacant) :

Cause	Action
Insufficient set of CDT or no operation of discharging (*)	Set the prescribed volume of CDT according to Table 4 (p.10). In addition, it is necessary to perform a discharging operation according to the User's Guide of QG-810/QG-800.
No addition of CDT (**)	After insert the Cartridge Holder to the Elution Position (E), add 200 µl of CDT to Cartridge (CA).
No transfer of the Cartridge Holder to the Elution Position (E) when adding CDT (**)	When adding CDT, addition has to be started after the transfer of the Cartridge Holder to the Elution Position (E).

(9) Cartridge (CA) can not be held on the Cartridge Holder :

Cause	Action
No return of the Release Lever to the left end (**)	Confirm that the Release Lever is positioned at the left-hand end of the Cartridge Holder and then set Cartridges(CA).

Further Note: Method for Recovering DNA from Clogged Cartridge (CA)

In case of QG-810/QG-800 :

<1> If lysate remain in Cartridge (CA) :

Transfer the lysate remaining in a Cartridge to a new Cartridge, and perform the procedures from 8-3 <1> (p.17) again.
For recovery from a filter in clogged Cartridge, see the operations from 1) described below.

<2> If WDT remain in Cartridge (CA) :

Discard WDT remaining in Cartridge.
For recovery from a filter in clogged Cartridge, see the operations from 1) described below.

In case of QG-Mini80 :

<1> If lysate remain in Cartridge (CA) :

Transfer the lysate remaining in a Cartridge to a new Cartridge, and perform the procedures from 8-4 <1> (p.21) again.
For recovery from a filter in clogged Cartridge, see the operations from 1) described below.

<2> If WDT remain in Cartridge (CA) :

Discard WDT remaining in Cartridge.
For recovery from a filter in clogged Cartridge, see the operations from 1) described below.

[Method for Recovering DNA from Clogged Cartridge (CA)]
Preparation for use: 70% ethanol
: A tweezers for otolaryngologic use or a tip-curved, acuminate tweezers

1) Dispense 200 µl of CDT to a 1.5 ml microtube in advance.
2) Add 750 µl of 70% ethanol to a Cartridge (CA) in a state set to a Waste Tube (WT). Perform pipetting slowly several times, and then remove 70% ethanol by suction with a pipette or decantation. Put the Cartridge upside-down to allow the remaining ethanol to be absorbed into clean paper.
3) After reference to Figures 2 and 3, dismount the filter from the Cartridge (CA) by pushing the rim of the filter with the tip of the tweezers.
4) Soak the dismounted filter in CDT placed in a 1.5 ml microtube, prepared in step 1), and incubate at 70°C for 10 min.
5) Vortex at the maximum speed for 1 min. Flash spin down for several seconds to remove drops from the inside of the lid.
6) Take out the filter, and put it into a new 1.5 ml microtube (after completion of recovery, discard the filter). Or transfer the fluid in which the filter has been soaked to a new 1.5 ml microtube except for the filter.
7) In any case of an original sample to be an animal tissue or a mouse tail, proceed to the procedures of 8-2 <6> (p.15) and thereafter in the Protocol for mouse tails and perform extraction again to recover genomic DNA.

Figure 2 Appearance of a tweezers put into Cartridge (CA)

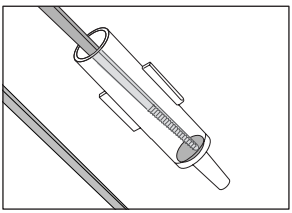
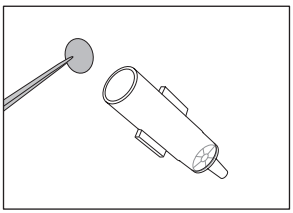


Figure 3 Appearance of a filter dismounted



10. Ordering Information

Product	Cat #
QuickGene DNA tissue kit S	DT-S
For extraction of genomic DNA from tissues	
QuickGene DNA whole blood kit S	DB-S
For extraction of genomic DNA from whole blood	
QuickGene RNA tissue kit S II	RT-S2
For extraction of total RNA from tissues	
QuickGene RNA cultured cell kit S	RC-S
For extraction of total RNA from cultured cells	
QuickGene RNA cultured cell HC kit S	RC-S2
For extraction of total RNA from cultured cells	
QuickGene RNA blood cell kit S	RB-S
For extraction of total RNA from leukocytes	
QuickGene Plasmid kit S	PL-S
For extraction of plasmid DNA from *Escherichia coli*	

Appendix 1 Setting of QG-810 Parameter

In the case of using a QG-810 select “DNA TISSUE” mode. The parameter of “DNA TISSUE” is the following Table.

Display Sequence	LCD message	PARAMETER
1	BIND PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	110
4	WASH VOL1	750
5	WASH VOL2	750
6	WASH VOL3	750
7	WASH VOL4	750
8	WASH VOL5	750
9	WASH DIP TM	0
10	WAS2 WAIT T	0
11	WAS2 COUNT	0
12	WAS2 PEAK	110
13	WAS2 VOL1	750
14	WAS2 VOL2	750
15	WAS2 VOL3	750
16	WAS2 VOL4	750
17	WAS2 VOL5	750
18	ELUT VOL	200
19	ELUT PEAK	100
20	ELUT DIP TM	90

If the volume of CDT needs to be changed to 50 µl, the “ELUT VOL” parameter should be set at “50”. When changing the parameter, refer to QG-810 User’s Guide.

Appendix 2 Setting of QG-800 Parameter

In the case of using a QG-800 select “DNA TISSUE” mode. The parameter of “DNA TISSUE” is the following Table.

Display Sequence	Operation menu	PARAMETER
1	SMAP PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	110
4	WASH VOL1	750
5	WASH VOL2	750
6	WASH VOL3	750
7	WASH VOL4	750
8	WASH VOL5	750
9	WAS2 COUNT	0
10	WAS2 PEAK	110
11	WAS2 VOL1	750
12	WAS2 VOL2	750
13	WAS2 VOL3	750
14	WAS2 VOL4	750
15	WAS2 VOL5	750
16	CLCT VOL	200
17	CLCT PEAK	120

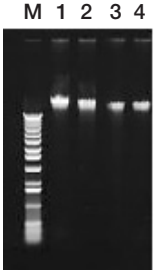
If the volume of CDT needs to be changed to 50 µl, the “CLCT VOL” parameter should be set at “50”. When changing the parameter, refer to QG-800 User’s Guide.

Appendix 3 Examples of the Data with QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)

● **Results of electrophoresis**

Figure 4 illustrates the electrophoretic patterns of genomic DNA extracted from 5 mg of mouse lung, kidney, tail or liver with this kit.

Figure 4



No.	Sample
1	Lung
2	Kidney
3	Tail
4	Liver

M : Marker (1 Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)
Electrophoresis conditions : 0.5% Agarose / 1 × TAE

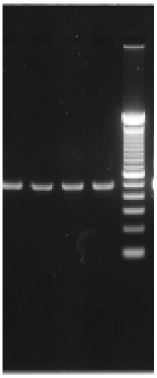
High purity genomic DNA was obtained using this kit and QuickGene.

● **PCR**

PCR was conducted on genomic DNA extracted from animal tissue using this kit, with G3PDH serving as the target.

Figure 5 illustrates agarose electrophoretic patterns of PCR with 30 pg of genomic DNA (extracted from mouse lung, kidney, tail and liver) serving as the template.

Figure 5



No.	Sample
1	Lung
2	Kidney
3	Tail
4	Liver

M : Marker (100 bp DNA Ladder : Invitrogen)
Template : 30 pg extracted genomic DNA
Primer : G3PDH (target size : 452 bp)
Electrophoresis conditions : 2% Agarose / 1 × TAE

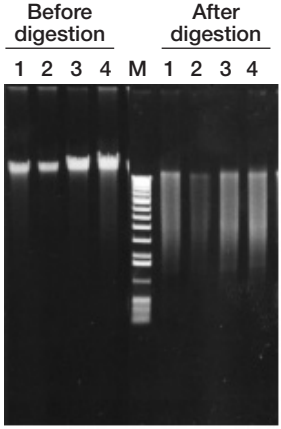
PCR amplification for G3PDH was successfully performed with 30 pg of genomic DNA.

● **Digestion with restriction enzyme EcoRI**

Genomic DNA extracted from 5 mg animal tissue, using a QG-800 and this kit, was digested with restriction enzyme.

Figure 6 illustrates agarose electrophoretic patterns shown after digestion of 17 µl genomic DNA (extracted from mouse tail, liver, lung and kidney) with restriction enzyme EcoRI.

Figure 6



No.	Sample
1	Tail
2	Liver
3	Lung
4	Kidney

M : Marker (1 Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)
Electrophoresis conditions : 0.5% Agarose / 1 × TAE

Each genomic DNA was digested with EcoRI successfully.

✻ Trademark and exclusion item
Right to registered name etc. used in this handbook is protected by law especially even in the case of no denotation.

FUJIFILM

FUJIFILM Corporation

FUJIFILM Corporation, Life Science Products Division
MIDTOWN WEST, 7-3, AKASAKA 9-CHOME
MINATO-KU, TOKYO 107-0052, JAPAN
TEL: +81-3-6271-2158 FAX: +81-3-6271-3136
E-mail: sginfo@fujifilm.co.jp
http://lifescience.fujifilm.com

FPT-709101-FP-1
DT-S-JE-A016369-LS事0701-1